

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ім. М. І. ПИРОГОВА

*На правах рукопису*

РИКАЛО НАДІЯ АНАТОЛІВНА

УДК 616-092:616.36-002:614.253.81:616-085

ПАТОГЕНЕЗ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ В І С  
У ДІТЕЙ: ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ,  
ПАТОГЕНЕТИЧНА ТЕРАПІЯ  
(експериментально - клінічне дослідження)

14.03.04 – патологічна фізіологія

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Науковий консультант:

МОРОЗ ВАСИЛЬ МАКСИМОВИЧ  
академік НАМН України,  
доктор медичних наук, професор

Вінниця – 2011

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	6
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ПАТОГЕНЕТИЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ В І С У ДІТЕЙ, ПРИНЦИПИ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ (огляд літератури).....	22
1.1. Патогенетична характеристика хронічних вірусних гепатитів у дітей в залежності від етіологічних, вікових та імунних факторів.....	22
1.2. Стан цитокінової регуляції та імунного статусу у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С.....	35
1.3. Печінкові та позапечінкові патоморфологічні зміни при вірусних гепатитах В і С у дітей.....	51
1.4. Сучасні підходи до патогенетичного лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей.....	61
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ	84
ДОСЛІДЖЕННЯ.....	84
2.1. Матеріал і методи клінічних досліджень.....	91
2.2. Матеріал і методи експериментальних досліджень.....	107
2.3. Методи статистичного аналізу.....	
РОЗДІЛ 3 ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ КЛІНІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ ХРОНІЧНИХ	108
ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ РІЗНОГО ВІКУ.....	
3.1. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей диспансерної групи, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.....	108
3.1.1. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у залежності від фази реплікації вірусу та активності запального процесу.....	109

3.1.2. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у віковому аспекті.....	114
3.1.3. Діагностичне значення вмісту $\alpha$ -фетопроतेїну у сироватці крові дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С..	131
3.1.4. Діагностичне значення вмісту вільного та пептидно-зв'язаного гідоксипроліну у сироватці крові дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.....	133
3.2. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у померлих дітей, хворих на вірусні гепатити.....	137
<b>РОЗДІЛ 4 ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЛЕТАЛЬНИХ ВИПАДКІВ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ У ДІТЕЙ.....</b>	<b>146</b>
4.1. Патоморфологія вірусних гепатитів В та С у дітей першого року життя .....	146
4.2. Патоморфологія хронічних вірусних гепатитів В та С у підлітків	164
4.3. Позапечінкові морфофункціональні зміни органів і тканин дітей, померлих від вірусних гепатитів В і С.....	179
<b>РОЗДІЛ 5 ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ..</b>	<b>191</b>
5.1. Патогенетична характеристика цитокінового профілю дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С залежно від фази реплікації вірусу та активності запального процесу.....	191
5.2. Патогенетична характеристика цитокінового профілю у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у віковому аспекті.....	197
<b>РОЗДІЛ 6 ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННОГО СТАТУСУ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ..</b>	<b>208</b>
6.1. Патогенетична характеристика показників клітинного і гуморального імунітету у дітей диспансерної групи, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у залежності від фази реплікації	208

вірусу та активності запального процесу.....	
6.2. Вікові особливості імунопатогенезу хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей.....	214
6.3. Кореляційний аналіз показників цитокінового профілю, імунного статусу та біохімічних параметрів при хронічних вірусних гепатитах В та С у дітей різного віку.....	237
<b>РОЗДІЛ 7 ЕФЕКТИВНІСТЬ НАЙБІЛЬШ УЖИВАНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ У ЯКОСТІ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ.....</b>	
7.1. Результати клінічного спостереження за нелікованими тваринами із хронічним токсичним гепатитом.....	242
7.2. Результати клінічного спостереження за тваринами із хронічним токсичним гепатитом на тлі введення гепатопротекторів..	244
7.3. Аналіз біохімічних показників сироватки крові нелікованих щурів із хронічним токсичним гепатитом .....	246
7.4. Аналіз біохімічних показників сироватки крові щурів із хронічним токсичним гепатитом, які отримували гепатопротектори.....	251
<b>РОЗДІЛ 8 РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ДНК (КЛІТИННИЙ ЦИКЛ, ПЛОЇДНІСТЬ, ФРАГМЕНТАЦІЯ) В ЯДРАХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТУ ТА ЙОГО ПАТОГЕНЕТИЧНОМУ ЛІКУВАННІ.....</b>	
8.1. Результати дослідження фаз клітинного циклу та плоідності набору ДНК в ядрах клітин печінки нелікованих статевонезрілих щурів із хронічним токсичним гепатитом .....	261
8.2. Результати дослідження стадій клітинного циклу та плоідності набору ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів із	270

хронічним токсичним гепатитом, які отримували гепатопротектори..	
РОЗДІЛ 9 МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЙОГО ЛІКУВАННІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРАМИ.....	301
9.1. Патоморфологія хронічного токсичного гепатиту у нелікованих щурів.....	301
9.2. Патоморфоз хронічного токсичного гепатиту у статевонезрілих щурів, які отримували гепатопротектори в якості патогенетичної терапії.....	316 355
РОЗДІЛ 10 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	409
ВИСНОВКИ.....	413
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	415
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	477
ДОДАТКИ.....	

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

А	- активність запального процесу ( $A_0$ – відсутня, $A_1$ – мінімальна, $A_2$ – низька, $A_3$ – помірна, $A_4$ – висока)
А/Г	- альбумін/глобуліновий індекс (коефіцієнт)
$\alpha$ -ФПН	- $\alpha$ -фетопротеїн
АЛТ	- аланінамінотрансфераза
АСТ	- аспартатамінотрансфераза
ВГ	- вірусний гепатит
ВГ В	- вірусний гепатит В
ВГ В+С	- вірусний гепатит В + С
ВГОП	- вільний гідроксипролін
ВГ С	- вірусний гепатит С
ВУВГ	- внутрішньоутробний вірусний гепатит
ГГТП	- $\gamma$ -глутамілтранспептидаза
ГПН	- гостра печінкова недостатність
ГС	- гепатопривний синдром
ГЦК	- гепатоцелюлярна карцинома
ЕД <sub>50</sub>	- ефективна (лікувальна) доза
ЕФ	- есенціальні фосфоліпіди
ЗК	- зірчасті клітини Іто
ІІ	- інтерлейкін
IGF-1	- інсуліноподібний фактор росту-1
ІРІ	- імунорегуляторний індекс
ІФА	- імуноферментний аналіз
ІФН	- інтерферон
КДР	- коефіцієнт Де Рітіса
КЦ	- клітинний цикл
ЛС	- латентна стадія
ЛФ	- лужна фосфатаза

МДА	- малоновий діальдегід
МЗС	- мезенхімально-запальний синдром
МНС	- великий комплекс гістосумісності
МПЦ	- метод проточної цитометрії
HBV	- вірус гепатиту В
HCV	- вірус гепатиту С
NK	- натуральні (природні) кілери (CD16+)
NO	- оксид азоту
ПЗГОП	- пептидно-зв'язаний гідроксипролін
ПКМ	- позаклітинний матрикс
ПЛР	- полімеразна ланцюгова реакція
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів
ПХВГ	- первиннохронічний вірусний гепатит
СДГ	- сукцинатдегідрогеназа
СТ	- сполучна тканина
Th	- Т-хелпери
TGF- $\beta$ 1	- трансформуючий фактор росту- $\beta$ 1
TNF- $\alpha$	- фактор некрозу пухлин- $\alpha$
УДХК	- урсодезоксихолієва кислота
ФІ	- фаза інтеграції
ФР	- фаза реплікації
ХВГ	- хронічний вірусний гепатит
ХВГ В	- хронічний гепатит В
ХВГ С	- хронічний гепатит С
ХПН	- хронічна печінкова недостатність
ХС	- холестатичний синдром
ХТГ	- хронічний токсичний гепатит
ЦП	- цироз печінки
ЦС	- цитолітичний синдром
ШОЕ	- швидкість осідання еритроцитів

## ВСТУП

### Актуальність теми

Проблема з'ясування вікових особливостей патогенезу хронічних вірусних гепатитів у дітей та удосконалення патогенетичної терапії даної патології залишається одним із актуальних питань патофізіології і медицини з огляду на те, що дана патологія є однією з найбільш розповсюджених на земній кулі інфекцій, характеризуються прогресивним перебігом, розвитком цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми [5, 11, 34, 44, 58, 92, 110, 163, 146, 242, 264, 301, 306, 421, 480, 503].

За даними ВООЗ у світі нараховується понад 2 млрд людей, інфікованих вірусом гепатиту В, та понад 200-300 млн – інфікованих вірусом гепатиту С, із них у 70-80 % інфекція персистує і сприяє переходу в хронічний вірусний гепатит [33, 45, 74, 203, 242]. Близько 400 млн людей є хронічними носіями вірусу гепатиту В, понад 200 млн – гепатиту С [45, 74, 242, 251, 299, 512]. Понад 1 млн випадків смертей щорічно пов'язано з гепатитом В та 10000 – із С. Щорічно у світі реєструється 50 млн нових випадків зараження вірусом гепатиту В [16, 235].

Нині в Україні склалася вкрай несприятлива епідемічна ситуація з вірусними гепатитами В і С [5, 33, 58, 116]. Інфікованість дорослого населення вірусом гепатиту В у нашій державі за даними офіційної статистики складає 2,2 % [5], С – 2 % [33], що відповідає помірному рівню інфікованості. Проте слід зазначити, що офіційна реєстрація вірусного гепатиту С в Україні розпочалась лише у 2003 році, при цьому вона базується, головним чином, на обліку клінічно виражених форм хвороби, що протікають із жовтяницею. Дані проведених недавно в Україні епідеміологічних досліджень вказують на те, що дійсний рівень інфікованості населення вірусами гепатитів В і С у 5-10 разів перевищує показники офіційної статистики [5, 33, 126].

Особливу групу інфікованих складають вагітні, через небезпеку реалізації вертикального шляху інфікування [91, 234, 251, 446, 494]. За даними



Л. В. Мороз (2002), інфікованість вагітних Вінницької області вірусом гепатиту В складає 21,1 %, С – 4,2 % [126].

На гепатити з парентеральним шляхом передачі діти хворіють рідше (вірусний гепатит В – 2,7 %, вірусний гепатит С – 1,0 %), але саме ці гепатити, на відміну від дорослих, відрізняються більш тяжким перебігом і схильністю до хронізації. Незважаючи на вакцинопрофілактику вірусного гепатиту В, що проводиться у багатьох країнах світу, захворюваність зростає і не має тенденції до зниження [235].

Інфікування дітей першого року життя головним чином відбувається перинатально [145, 309, 440, 449, 455, 485, 503]. У 38-90 % із них розвивається первиннохронічний вірусний гепатит з прогресивним перебігом, високою загрозою розвитку цирозу печінки і/або гепатоцелюлярної карциноми, незалежно від клінічних проявів хвороби в перші місяці життя [6, 26, 235].

Хронічний вірусний гепатит у дітей старшого віку можуть маскуватись під патологію інших органів та систем, оскільки на перший план виступають позапечінкові прояви, зокрема патологія травного тракту, щитоподібної залози, цукровий діабет I типу [39, 44, 116, 161, 168, 169, 215, 241, 356, 359, 387], що призводить до пізньої діагностики вже на стадії формування цирозу печінки та проявів хронічної печінкової недостатності.

Для встановлення особливостей механізмів розвитку хронічного вірусного гепатиту у дітей необхідно визначити виразність клініко-біохімічних синдромів та оцінити їх патогенетичне значення, у залежності від активності запального процесу у печінці, фази реплікації вірусу, а також віку хворої дитини.

З'ясування патогенезу хронічного вірусного гепатиту у дітей, безперечно, пов'язано зі знанням клітинних і молекулярних механізмів запалення в печінці, що розкривають суть патологічного процесу. Протягом останніх років розкрита вагома роль цитокінів у здійсненні противірусного імунітету та регуляції запалення у дорослих [47, 126, 140, 142, 143, 164, 336, 545] та дітей [23, 36, 96, 243] при вірусному гепатиті, проте без урахування вікових особливостей

дитячого організму. Відомо, що порушення функціонування системи регуляторних цитокінів при вірусному гепатиті може бути одним із механізмів розвитку несприятливих наслідків, а саме : виникнення печінкової недостатності, формування первиннохронічних і хронічних форм і/або переходу в цироз печінки і гепатоцелюлярну карциному [23, 36, 164, 243, 408]. Перебіг хронічного вірусного гепатиту у дітей, особливо інфікованих перинатально, має певні особливості, які пов'язані з імунною відповіддю [234, 255], багато сторін якої ще не розкриті.

Представлені у літературі дані стосовно цитокінового профілю та імунного статусу при хронічному вірусному гепатиті у дітей малочисельні, не є однозначними і кінцевими. Визначення цитокінового профілю крові з оцінкою цитокінів різних імунокомпетентних клітин повинно доповнювати загальноклінічне біохімічне та імунологічне обстеження хворих з метою виявлення характеру імунної відповіді і гепатоцелюлярного пошкодження, її корекції, а також прогнозування перебігу захворювання. Це визначає актуальність їх подальшого дослідження. Співставлення рівня основних про- і протизапальних цитокінів із показниками біохімічного та імунного статусу хворих, з урахуванням активності і форми запального процесу, та з'ясування механізмів імунологічної та цитокінової відповіді, необхідні для розробки діагностичних критеріїв несприятливого перебігу даної патології та попередження ускладнень.

Збільшення кількості інфікованих на вірусний гепатит, пізнє виявлення хронічних форм на стадії цирозу печінки, розвиток гострої та хронічної печінкової недостатності, а також неефективність лікування веде до збільшення летальності від вірусного гепатиту В та вірусного гепатиту С [16, 400]. Згідно з даними літератури [84], у Російській Федерації частота летальних випадків дітей, хворих на вірусний гепатит, складає 0,7–1,4 % від загальної кількості дітей, які померли. В Україні такі дані відсутні. Для успішного лікування хворих із вкрай тяжкими формами вірусного гепатиту поряд зі знанням етіології і молекулярно-біологічних механізмів патогенезу необхідно мати чіткі

уявлення про безпосередні причини летальних наслідків. Відтак є актуальними дослідження клініко-патогенетичних та морфологічних проявів вірусного гепатиту, особливо при тяжкому перебігу із летальним наслідком, а також патогенетичний аналіз особливостей морфологічних критеріїв даної патології у дітей. Оскільки при хронічних вірусних гепатитах В та С уражається не лише печінка, а й інші органи та тканини [39, 84, 117, 356], необхідно дослідити позапечінкові морфологічні зміни при даній патології та з'ясувати їх патогенетичну роль при летальних наслідках.

Незважаючи на значні успіхи гепатології в області етіології та патогенезу вірусних захворювань печінки, проблема адекватного і ефективного лікування хронічного вірусного гепатиту у дітей залишається актуальною і сьогодні [92, 105, 107, 108, 147, 231, 528].

Фармакотерапія хронічного вірусного гепатиту у дітей у наш час регламентується Наказом МОЗ України «Про затвердження Протоколів лікування дітей за спеціальністю «Дитяча гастроентерологія» (№471 від 10 вересня 2007 року) [129]. Сучасне лікування хронічного вірусного гепатиту у дітей базується на наступних основних принципах: етіологічному – спрямованому на ліквідації причини захворювання, патогенетичному – впливі на механізми, що обумовлюють розвиток некрозапальних процесів, фіброзу і їх прогресування, а також на корекцію порушень, пов'язаних зі зміною функції печінки та профілактику ускладнень [48, 107].

При етіологічному лікуванні хронічного вірусного гепатиту у дорослих перевага надається рекомбінантним формам інтерферону- $\alpha$  [110, 126, 285, 318, 323]. Інтерферонотерапія у дітей має ряд обмежень, зокрема призначається лише після 2 років, з урахуванням ряду абсолютних та відносних протипоказань, можливого розвитку тяжких побічних реакцій та економічних проблем [92, 107]. Тому більшість дітей із хронічним вірусним гепатитом отримує лише патогенетичну терапію. Відомо, що основне місце серед засобів патогенетичної терапії посідають гепатопротектори, які підвищують стійкість печінки до патологічних впливів та сприяють відновленню її функції при різних

ушкодженнях [53, 54, 105, 249]. Необхідно відмітити, що основні відомі механізми дії та фармакологічні ефекти гепатопротекторів, а це : антиоксидантна дія, мембраностабілізуюча, детоксикаційна, протизапальна вивчені переважно біохімічними та морфологічними методами як у доклінічних, так і клінічних дослідженнях.

Вплив засобів патогенетичної терапії, зокрема гепатопротекторів, на клітинні механізми репаративного росту печінки на сьогоднішній день не досліджений. Між тим різні препарати можуть мати індивідуальні відмінності у впливі на активність проліферативних, поліплоїдизаційних та гіпертрофічних процесів у печінці, що, безсумнівно, може відобразитись на ступені відновлення патологічно зміненого органу та прогнозі захворювання.

Враховуючи величезну кількість препаратів з гепатопротекторними властивостями на фармацевтичному ринку України, які призначаються дітям, хворим на хронічний вірусний гепатит, необхідно провести дослідження ефективності даної групи лікарських засобів у порівняльному аспекті на експериментальній моделі хронічного токсичного гепатиту у статевонезрілих тварин для вивчення ступеня їх ефективності та патогенетичного обґрунтування доцільності їх практичного застосування. При цьому врахувати різноманітні механізми їх дії: регенераційні, антиапоптичні, антитоксичні, метаболічні, антиоксидантні, протизапальні, антифібротичні, антихолестатичні, антицитолітичні, позитивний вплив на лімфо- та кровообіг.

Таким чином, хронічні вірусні гепатити В та С у дітей є актуальною медико-соціальною проблемою сьогодення, що потребує великої уваги, через розвиток несприятливих для життя наслідків. Зростання кількості інфікованих дітей, у першу чергу новонароджених, потребує детального вивчення вікових особливостей патогенезу даної патології, розробки нових принципів патогенетичного лікування, спрямованого на підвищення репаративної регенерації тканин печінки для відновлення функцій ушкодженого органу.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Морфогенез та медикаментозний патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту» (номер державної реєстрації 0104u010146). Дисертант є співвиконавцем названої НДР. Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН «Патологічна фізіологія та імунологія» (протокол №72 від 14 травня 2009 року).

**Мета дослідження:** встановити вікові особливості патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей та розробити нові підходи до патогенетичного лікування даної патології.

#### **Завдання дослідження:**

1. Встановити патогенетичні особливості основних клініко-лабораторних синдромів і симптомів у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, у залежності від фази реплікації вірусу та віку.
2. Дослідити цитокіновий профіль сироватки крові з урахуванням фази інфекційного процесу, запальної активності та віку дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, для з'ясування його ролі в механізмах прогресування захворювання.
3. Проаналізувати зміни показників гуморального та клітинного імунітету при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку з урахуванням вікових особливостей стану імунної системи, фази реплікації вірусу та активності запального процесу.
4. Встановити характер змін біохімічних показників та ступінь їх кореляції із показниками цитокінового профілю та імунного статусу дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С.
5. Вивчити патоморфологічні зміни у внутрішніх органах при летальних випадках вірусних гепатитів та уточнити їх патогенез з урахуванням вікових особливостей дитячого організму.

6. Розробити діагностичні критерії несприятливого прогнозу при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку.
7. Дослідити зміни фаз клітинного циклу, плідності набору та фрагментації ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті та його патогенетичному лікуванні з метою виявлення особливостей впливу різних гепатопротекторів на процеси, що відбуваються у ядрі.
8. Визначити в експерименті найбільш ефективні серед широко уживаних гепатопротекторів, використовуючи біохімічні, цитофлуориметричні та морфологічні критерії.
9. Розробити та обґрунтувати нові підходи до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку.

*Об'єкт дослідження:* хронічні вірусні гепатити В і С у дітей, хронічний токсичний гепатит у статевонезрілих щурів.

*Предмет дослідження:* патогенетичні особливості перебігу, функціонального стану печінки, цитокінового профілю та імунологічного статусу при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку, патоморфологія летальних випадків вірусних гепатитів у дітей, патогенетичне лікування.

*Методи дослідження:* експериментальні – для дослідження ефективності гепатопротекторів, біохімічні – для вивчення функціонального стану печінки, імунологічні – для дослідження клітинної та гуморальної ланок імунітету, імуноферментні – для визначення вмісту цитокінів, імуноглобулінів, маркерів вірусних гепатитів та  $\alpha$ -фетопротейну в сироватці крові, цитофлуориметричні – для вивчення фаз клітинного циклу, фрагментації та плідності ядерної ДНК гепатоцитів щурів, клінічні – для з'ясування вікових особливостей маніфестації хронічного вірусного гепатиту В і С у дітей, молекулярно-біологічні – для визначення ДНК вірусу гепатиту В та РНК вірусу гепатиту С, морфологічні – для аналізу ступеня ушкодження печінки, нирок, підшлункової залози, кишок,

легень, головного мозку, наднирників та тимуса, математичні – для статистичної обробки отриманих результатів.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

У дисертаційній роботі на основі теоретичного підходу, експериментального та клінічного досліджень розкрито нові, невідомі раніше, вікові особливості патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей залежно від стану цитокинової регуляції та функціонування клітинної і гуморальної ланок імунітету. Встановлено вплив найбільш уживаних гепатопротекторів на процеси репаративної регенерації гепатоцитів, фрагментацію та плоїдність набору ядерної ДНК, біохімічні параметри та морфологічні прояви при експериментальному хронічному токсичному гепатиті, що є необхідним для пізнання механізмів розвитку та розробки нових підходів до патогенетичної терапії хронічного вірусного гепатиту у дітей.

Уперше доведена детермінованість патогенетичних особливостей клініко-лабораторних показників при хронічному вірусному гепатиту у дітей в залежності від віку, фази реплікації вірусу та активності запального процесу. Вперше у дітей у віковому аспекті проведено дослідження цитокинового профілю та імунного статусу при хронічних вірусних гепатитах В і С, на основі чого розкриті вікові особливості патогенезу та встановлені предиктори несприятливого перебігу даної патології у дітей першого року життя та підлітків. Так у дітей першого року життя констатовано зменшення рівня інсуліноподібного фактору росту-1, інтерферону- $\alpha$ , інтерферону- $\gamma$  та збільшення – трансформуючого фактору росту- $\beta$ 1, інтерлейкіну-10, що сприяє первинній хронізації вірусних гепатитів В і С, а збільшення рівня інсуліноподібного фактору росту-1 та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну з віком має важливу роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки і пояснює швидкі темпи формування цирозу печінки у підлітків та юнаків.

Уточнено вікові аспекти патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку на основі комплексного дослідження кореляційних

взаємозв'язків та співставлення клінічних, біохімічних і морфологічних даних, показників цитокінового профілю, гуморального та клітинного імунітету.

Установлені вікові особливості печінкових та позапечінкових гістологічних змін органів і тканин в організмі дітей при летальних наслідках вірусних гепатитів поглибили розуміння механізмів розвитку даної патології у дітей та дозволили вперше інтегровано оцінити глибину і небезпеку ускладнень. Так у дітей першого року життя, як правило на тлі акцидентальної інволюції тимуса 3-5 ступеню, розвивається гігантоклітинний вірусний гепатит В і С, характерними особливостями якого є фульмінантний перебіг, що призводить до гострої печінкової та поліорганної недостатності. Для підлітків характерним є формування цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми, що спричиняє розвиток хронічної печінкової недостатності, типовим проявом якої є геморагічний синдром.

Уперше в експерименті досліджені ядерні механізми ушкодження та регенерації гепатоцитів на основі змін фаз клітинного циклу, плоідності набору та фрагментації ядерної ДНК у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, а також вивчений вплив гепатопротекторів на вказані процеси. Визначені найбільш ефективні препарати, які володіють регенераційною та антиапоптичною фармакологічною активністю.

Патогенетично обґрунтована доцільність вибору і застосування окремих гепатопротекторів при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей у залежності від домінуючих клініко-біохімічних синдромів та віку. Розроблені і запропоновані нові, патогенетично обґрунтовані та експериментально доведені підходи до лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей з урахуванням віку, спрямовані на регуляцію репаративної регенерації ушкодженої печінки.

Уперше цитофлуориметрично встановлено, що гепатопротектори біциклол, антраль та тіотриазолін володіють фармакологічним ефектом, який полягає в підсиленні синтезу ядерної ДНК гепатоцитів, що значно збільшує їх потенціал до проліферації. Більш помірно впливають на клітинний цикл гепатоцитів есенціале, урсохол, дарсил, незначно посилюючи синтетичні та



мітотичні процеси в ядрах гепатоцитів, що можна використовувати для попередження неконтрольованого збільшення маси органу. Уперше встановлено, що зменшення фрагментації ядерної ДНК відбувається при застосуванні гепатопротекторів артишоку та галстени. Доведено, що потужним антифіброзним ефектом володіють препарати біциклол та антраль, дещо меншою мірою урсохол, есенціале та глутаргін.

### **Практичне значення одержаних результатів**

За результатами наукового дослідження виявлені особливості патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку, що допоможе практикуючим лікарям результативно контролювати перебіг захворювання, попереджувати прогресування та розвиток небезпечних ускладнень.

Запропонований спосіб неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки, на основі кількісного визначення  $\alpha$ -фетопротейну у сироватці крові, допоможе у скринінговому виявленні даних ускладнень хронічних вірусних гепатитів. Запропоновано спосіб неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки на основі кількісного визначення  $\alpha$ -фетопротейну у сироватці крові (Пат. 53526 України).

Розроблено і патогенетично обґрунтовано діагностичний алгоритм виявлення хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку, який допоможе практикуючим лікарям проводити вчасну діагностику та адекватне диспансерне спостереження за даним контингентом хворих, з метою своєчасного лікування та профілактики ускладнень.

Встановлені предиктори несприятливого перебігу даної патології, які зумовлюють розвиток первиннохронічного вірусного гепатиту та швидке формування цирозу печінки у дітей першого року життя та підлітків, якими є: дисбаланс прозапальних (фактор некрозу пухлин- $\alpha$ , інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, інтерлейкін-6, інтерлейкін-8), протизапальних (інтерлейкін-4, інтерлейкін-10) та профіброгенних (інсуліноподібного фактору росту-1, трансформуючого фактору росту- $\beta$ 1) цитокінів, дефіцит інтерферогенезу, збільшення вмісту пептидно-зв'язаного гідроксипроліну, що дозволить практикуючим лікарям

удосконалити проведення моніторингу перебігу хронічних вірусних гепатитів у дітей та ефективності терапії.

На основі результатів аналізу морфофункціональних вікових особливостей летальних випадків вірусних гепатитів у дітей визначені структурні основи прогредієнтності (хронізації і розвитку цирозу печінки) й оцінена їх роль з урахуванням цілісності дитячого організму.

Розроблена і запатентована експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту у статевонезрілих щурів (Пат. 43704).

Розроблені нові принципи індивідуальної патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку в залежності від потреби активації процесів регенерації печінки чи зменшення виразності біохімічних синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення, покращення загального функціонального стану органу, сповільнення темпів фіброзування, що дозволить підвищити ефективність лікування даної патології.

За матеріалами дисертації видано інформаційний лист №60 про нововведення в системі охорони здоров'я «Діагностичні критерії виявлення хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей» (К., 2008).

Результати дослідження впроваджено в науковий та навчальний процеси на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського», Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, Івано-Франківського державного медичного університету, Донецького державного медичного університету ім. М. Горького, Харківського національного медичного університету, Сумського державного університету, ВДНЗУ «Українська стоматологічна академія», на кафедрах дитячих інфекційних хвороб, педіатрії №1, фармакології, біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, у науковий процес науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії та відділу біохімічних досліджень НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, у

практичну діяльність Обласної дитячої клінічної інфекційної лікарні м. Вінниці, Вінницької Обласної дитячої клінічної лікарні, Вінницького Обласного клінічного ендокринологічного диспансеру, Хмельницької міської дитячої лікарні.

### **Особистий внесок здобувача**

Автором самостійно здійснено розробку основних теоретичних положень роботи, проведено аналіз вітчизняних і зарубіжних наукових джерел відповідно до теми дослідження, опановано методи запланованих досліджень. Дисертантом розроблена експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту у статевонезрілих щурів та самостійно проведено всі експериментальні дослідження, набір і обробку фактичного матеріалу, статистичний та науковий аналіз отриманих результатів. Морфологічні дослідження проведені на кафедрі патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова за участю к.мед.н., доц. Рауцкієне В. Т., цитофлуориметричні – у Науково-дослідному центрі Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Гунаса І. В., біохімічні – у Науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії на базі Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Луцюка М. Б., імунологічні дослідження виконані під керівництвом д.мед.н., професора Пухлика Б. М. на базі акредитованої імунологічної лабораторії «Імунолог» м. Вінниця. Дисертантом самостійно написано та проілюстровано всі розділи дисертації, проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовано усі положення і висновки, підготовлено до друку результати власних досліджень. Автором самостійно написано 14 статей у наукових фахових виданнях і 14 статей за темою дисертації опубліковані в співавторстві з науковим консультантом та колегами, де автору належать основні ідеї та розробки стосовно вікових особливостей патогенезу та нових підходів до лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей, результати експериментальних досліджень, їх статистичний і науковий аналіз, теоретичне

узагальнення фактичного матеріалу. Запозичення ідей та розробок співавторів публікацій не було. У актах впровадження викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження. Матеріали кандидатської дисертації у написанні докторської дисертації не використовувалися.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні результати дослідження доповідалися та обговорювалися на V Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів» (Запоріжжя, 2008); XIV Університетській науково-практичній конференції молодих вчених та фахівців (Вінниця, 2008); Науково-практичній конференції «Біохімічні маркери діагностики, вибору лікування та прогнозу серцево-судинних хвороб і хвороб органів травлення», присвяченій 90-річчю з дня народження професора Олійника С.Ф. та пам'яті професора Панчишин М.В. (Львів, 2008); I міжнародному конгресі «Сучасні досягнення інфузійної терапії» (Черкаси, 2008); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії» (Полтава, 2009); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хвороби печінки в клінічній практиці» (Харків, 2009); 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (Brussels, Belgium, 2009); Науково-практичній конференції і пленумі Асоціації інфекціоністів України «Інфекційні хвороби у клінічній та епідеміологічній практиці» (Львів, 2009); I та II науково-практичних конференціях «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2008, 2009); III науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої 100-річчю з дня народження проф. Е.Н. Бергера (Тернопіль, 2010); Науковому конгресі «VI Міжнародні Пироговські читання», присвяченого 200-річчю М. І. Пирогова та V з'їзді анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2010); VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з

клінічної фармакології «Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина», присвяченій 90-річчю професора О.О. Столярчука (Вінниця, 2010); VIII з'їзді інфекціоністів України «Інфекційні хвороби: досягнення і проблеми в діагностиці та терапії» (Вінниця, 2010); 28<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (Nica, France, 2010); IX читаннях ім. В.В. Підвисоцького, присвячених 110 річниці заснування університету (Одеса, 2010); V Пленумі товариства патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні аспекти типових патологічних процесів» (Луганськ, 2010).

### **Публікації**

Основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації викладені в 40 опублікованих працях, із них 27 статей (одноосібних – 15) у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, де можуть публікуватися матеріали докторських та кандидатських дисертацій. Отримано 2 патенти України на корисну модель.

Висловлюємо подяку завідувачу кафедри дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова д. мед. н., професору Незгоді І. І. за надану допомогу у проведенні клінічних досліджень.

# РОЗДІЛ 1

## ПАТОГЕНЕТИЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ В І С У ДІТЕЙ, ПРИНЦИПИ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ (огляд літератури)

### 1.1. Патогенетична характеристика хронічних вірусних гепатитів у дітей в залежності від етіологічних, вікових та імунних факторів

Однією з найважливіших медико-соціальних проблем сьогодення є вірусні гепатити (ВГ) В і С через надзвичайно швидкий ріст захворюваності та несприятливі наслідки. В етіологічній структурі ВГ, що реєструються у всьому світі, понад 50 % складає ВГ В, близько 45–50 % – ВГ С. За даними Центру досліджень вірусних захворювань ВООЗ [203], тим або іншим вірусом, що спричиняє ураження печінки, інфікований кожний третій житель планети, при цьому близько 25 % із них мають виразні ураження печінки (хронічний вірусний гепатит (ХВГ), цироз печінки (ЦП), гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК)) [34, 45, 74, 103, 219, 242, 264, 266, 301]. Відомо, що ХВГ В займає десяте місце серед основних причин смерті у світі [58, 74, 211, 242]. Вважають, що 80 % випадків ГЦК у дорослих та 68,8 % у дітей спричинено HBV-інфекцією [94, 237, 306, 480].

ВГ С є найбільш актуальною патологією печінки у 21 столітті [99, 158, 163, 251, 299] оскільки кількість інфікованих перевищує 200 млн [512]. За даними Американського центру контролю і запобігання захворювань, у США в середньому у 230 000 людей щорічно вперше реєструється ВГ С, близько 10000 людей щорічно помирає від ЦП та ГЦК, спричинених даним вірусом [290, 301]. У Великобританії HCV-інфекція є провідною причиною ЦП, ГЦК і є найбільш частим показанням для трансплантації печінки [449].

HCV-інфекція у дітей є надзвичайно актуальною проблемою у багатьох країнах Європи, Азії, США [237, 292, 324, 400, 498, 505]. У США 0,2 % дітей до 12 років та 0,4 % підлітків від 12 до 19 років інфіковано HCV

[307, 503], що складає близько 240 тисяч осіб. В Єгипті 5,8 % практично здорових дітей є інфікованими HCV [292].

У країнах Європи та США переважає «вертикальний» шлях передачі HCV, що складає від 5 % до 56,2 % та завершується наступною хронізацією [145, 309, 353, 440, 449, 455, 485, 487, 503, 520, 540], на другому місці – парентеральний шлях при введенні препаратів крові (23,1–31,3 %), при проведенні медичних маніпуляцій інфікується 9,2 % дітей, у 12,5–21,5 % – шлях зараження невідомий [145, 449].

В Україні на перший план виступає перинатальне інфікування HBV та HCV [6, 8, 14, 58, 91, 103]. Передача HBV від матері до дитини здійснюється під час пологів у 40–95 % випадків [8, 44, 91], HCV – у середньому у 5–10 % випадків та залежить від інтенсивності епідеміологічного процесу в регіоні (від 1,0 % до 33,0 %) [16, 17, 37, 91, 110, 258, 352, 486].

Інфікування дітей раннього віку HBV та HCV-інфекцією у 24,4–28 % випадків відбувається при проведенні таких «звичайних» парентеральних маніпуляцій, як : профілактичні щеплення, взяття крові при профілактичних оглядах, ін'єкціях лікарських препаратів, в тому числі препаратів крові [17, 37, 103, 234].

За даними [26, 243, 353, 420], серед інфікованих вірусами гепатиту дітей першого року життя у 31,2–41,5 % діагностується HCV-інфекція, у 36,6–53,1 % – HBV. У 1–5,9 % дітей даного віку, інфікованих HBV, та до 15 % – HCV, розвивається фульмінантний гепатит, що проявляється гострою печінковою недостатністю (ГПН) та призводить до летального наслідку [310, 457]. Другим серйозним наслідком є розвиток хронічних уражень печінки, що призводить до формування ЦП [266, 420]. На думку В.Ф. Учайкіна (2003), ХВГ В у дітей слід розглядати як первинно-хронічний, оскільки після маніфестного гострого ВГ В формування хронічного не відбувається.

Доведено, що при інфікуванні на першому році життя HBV, особливо інтранатально, частота хронізації сягає 90 %, у 2-3 роки – 40-70 %, у 4-6 років – 5-40 %, а у дітей старше 7 років – лише 6-10 % [6, 8, 9, 26, 44, 71, 91,

234]; до 50 % у дітей, інфікованих HCV, формується первиннохронічний ВГ (ПХВГ) [26, 91, 353, 376], проте механізми хронізації у віковому аспекті на сьогоднішній день не з'ясовані. Вважається, що перинатально інфіковані діти до 20-ти річного віку помирають від ЦП чи ГЦК [44, 212, 261, 301]. Враховуючи наведені факти стає очевидним, що проблема ХВГ буде ще довго актуальною.

За даними [37, 110, 251, 290, 376], протягом останнього десятиріччя особливо виросла підліткова захворюваність ХВГ В і С (43–85 %), враховуючи ранній початок статевого життя, безладні і незахищені статеві контакти, а також розповсюдження внутрішньовенної наркоманії серед молоді [90, 214, 403]. Також, на думку [17, 55, 376], це може бути пов'язано з пізньою маніфестацією клінічних проявів хвороби у інфікованих перинатально або ж у ранньому дитячому віці.

Існують різні літературні дані щодо частоти спонтанного кліренсу у HCV-інфікованих дітей: від 5,6 до 55 % випадків [351, 385, 497], проте вважається, що діти, інфіковані парентеральним шляхом мають більші шанси на спонтанний імунний кліренс вірусу, ніж інфіковані вертикально. Існують припущення, що з одного боку це може бути пов'язано із імунною толерантністю, а з іншого – з такими чинниками, як генотип вірусу, вірусне навантаження [303, 459, 474, 486]. Проте чітких механізмів і предикторів хронізації ВГ у дітей, інфікованих перинатально, на сьогоднішній день не встановлено.

До основних клінічних симптомів ХВГ відносяться: астеновегетативний, больовий, диспептичний, холестатичний, системної запальної відповіді, аутоімунний, гепатопривний, гіперспленізму. До основних біохімічних синдромів відносяться: цитолітичний, мезенхімально-запальний (імунозапальний), холестатичний, метаболічної інтоксикації, гепатопривний [14, 18, 95, 110, 143, 213, 464].

Цитолітичний синдром (ЦС) розвивається внаслідок ушкодження клітин печінки різними чинниками – вірусними, токсичними, аутоімунними –



і полягає в підвищенні проникності мембран гепатоцитів, з розвитком їх дистрофії чи некрозу. ЦС є показником активності патологічного процесу в печінці. Одним з універсальних механізмів ушкодження гепатоцитів, як й інших клітин, є надмірна пероксидація мембранних структур. За патогенезом розрізняють декілька варіантів ЦС: переважно цитотоксичний – внаслідок прямої ушкоджуючої дії етіологічного чинника; імуноцитоліз – дія етіологічного чинника опосередковується імунопатологічними реакціями; гідростатичний цитоліз – при розвитку жовчної гіпертензії [95, 104, 143].

Вихідний рівень активності аланінамінотрансферази (АЛТ), як основний маркер ЦС, має прогностичне значення при ХВГ В. Зокрема встановлено, що довготривало нормальний рівень АЛТ у хворих із асимптоматичним перебігом пов'язаний із сприятливим прогнозом, тоді як у дітей з тривало підвищеним рівнем АЛТ відмічається більш серйозне ушкодження печінки з розвитком ЦП (14,2 %), що в подальшому асоціюється з високою захворюваністю і смертністю [439, 475]. Зростання активності АЛТ більш ніж у 2 рази є показом для проведення протівірусної терапії [439].

Мезенхімально-запальний синдром (МЗС) є наслідком процесів сенсibiliзації імунокомпетентних клітин і активації ретикуло-ендотеліальної системи у відповідь на антигенну стимуляцію. МЗС синдром визначає активність патологічного процесу. Результатом антигенної стимуляції імунокомпетентних клітин є імунна відповідь внаслідок кооперативної взаємодії Т, В-лімфоцитів і макрофагів. Імунна відповідь забезпечує локалізацію, руйнування та елімінацію патогенного чинника, що володіє чужерідними для організму антигенами. Проте при тривалій антигенній стимуляції імунна відповідь поряд із захисною має ушкоджуючу гепатоцелюлярну дію і супроводжується активацією фіброзоутворення у печінці [143, 304, 343].

Холестатичний синдром (ХС) виникає при порушенні секреції холестерину, жовчних кислот і білірубину в жовчних капілярах. Це

відбувається внаслідок прямого порушення секреції жовчі гепатоцитами (1 тип), або ж порушення реабсорбції води та інших перетворень жовчі в дрібних внутрішньопечінкових жовчних капілярах (2 тип). Основними чинниками патогенезу внутрішньопечінкового холестазу на рівні гепатоцитів є зниження проникності мембран, зокрема при наростанні в них співвідношення холестерин/фосфоліпиди і сповільнення швидкості метаболічних процесів; пригнічення активності мембранозв'язаних ферментів (АТФ-ази та інших, що беруть участь в процесах транспорту через мембрану) ; зниження енергетичного забезпечення екскреторної функції ; зниження метаболізму жовчних кислот і холестерину [143, 297, 305, 367, 392, 406].

Відомі антиоксидантні властивості білірубіну, який є акцептором активних форм кисню, а тому здатний запобігати загибелі клітин, спричиненої активацією перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) при багатьох патологічних станах [56, 295].

Рівень підвищення активності лужної фосфатази (ЛФ) у сироватці крові внаслідок холестазу, хоча не є прямим маркером загибелі гепатоцитів, проте свідчить про інтенсивність даного процесу [46].

При внутрішньопечінковому холестазі, який розвивається і при ВГ [406, 428, 433, 484], порушується пасаж жовчі з гепатоцита у жовчні протоки. У нормі жовчні кислоти секретуються у просвіт жовчного капіляра за участю транспортного білка (bile salt exporter pump), робота якого реалізується за принципом негативного зворотного зв'язку [7]. При підвищенні концентрації жовчних кислот у протоках їх екскреція з гепатоцитів сповільнюється або припиняється. При цьому більш гідрофобні жовчні кислоти, зокрема холева і дезоксихолева, чинять токсичну дію на мітохондрії гепатоцитів, що сприяє підвищенню проникності внутрішньої мембрани мітохондрій для іонів, набуханню останніх з вивільненням цитохрому С у цитозоль і апоптозу клітин [297, 392, 433]. У зв'язку з ушкодженням гепатоцитів і застоєм жовчі в протоках, підвищується вміст прозапальних цитокінів і трансформуючого

фактору росту-1 $\beta$  (TGF-1 $\beta$ ), які, у свою чергу, стимулюють мезенхімальні клітини до надмірного синтезу компонентів позаклітинного матриксу (ПКМ), що в подальшому призводить до активації зірчастих клітин (ЗК) та фіброгенезу [250, 367, 368, 397, 406, 428].

Гепатопривний синдром (ГС) є наслідком прогресуючого перебігу хронічних гепатитів різної етіології, або ж може розвинутися при масивному некрозі гепатоцитів у хворих на ХВГ В, ХВГ С. Виділяють декілька форм ГС. Перша форма – печінково-клітинна жовтяниця, в основі якої лежать порушення самих печінкових клітин, що веде до повернення білірубину в кров після його кон'югації і порушення захоплення непрямого білірубину гепатоцитами. При цьому, на відміну від внутрішньопечінкового холестазу, немає змін в ліпідному спектрі крові. Друга форма – порушення білковосинтезуючої функції печінки, що проявляється зменшенням синтезу білків, у першу чергу альбумінів, і нуклеотидних коферментів, що забезпечують обмін речовин в організмі. Результатом цього є зменшення вмісту альбумінів у плазмі, зниження онкотичного тиску, підвищення вмісту вільних амінокислот, розвиток азотемії, аміноацидурії. Третя форма ГС характеризується геморагічними розладами, в основі яких лежить порушення синтезу прокоагулянтів. Певну роль відіграє також недостатня інактивація фібринолізу. Індикаторами ГС є : зменшення вмісту у крові загального білку, особливо за рахунок альбуміну, із зниженням альбумін/глобулінового (А/Г) коефіцієнту, зменшення вмісту у крові холестеролу, фібриногену, протромбіну, проакцелерину, проконвертину, плазміногену [141, 143].

Відомо, що при вертикальному шляху передачі HCV-інфекції клінічний перебіг у 46 % дітей асимптоматичний, з нормальним рівнем АЛТ до лікування [278, 449]. Спонтанний кліренс настає у 12,5 % дітей у віці 11-30 місяців [324].

За даними [145], через 10 років після імовірного зараження HCV у 1,8 % дітей з 1 а генотипом, які інфіковані перинатально, відбувається прогресування захворювання аж до стадії декомпенсованого ЦП (середній

вік хворих – 9,6 років). Таким дітям, на думку акторів, лікування слід проводити на ранніх стадіях захворювання.

Певне значення у прогресуванні фіброзу та розвитку ЦП при ХВГ має стать. Так відомо [432], що чоловіча стать є доведеним фактором прогресування ХВГ. Зокрема встановлено [17, 55, 110, 213, 260], що на ХВГ В та С хворіють переважно хлопчики (71,2 %), що зумовлено супресивним впливом андрогенів на імунну систему. Частота самовільного кліренсу HBsAg вища в осіб жіночої статі, що доводить протекторну роль естрогенів [347, 363, 442]. Разом з тим поодинокі спостереження [240, 485] засвідчують більш часте інфікування дівчаток, народжених від HBV- та HCV-позитивних матерів, у порівнянні з хлопчиками.

Т. О. Крючко та І. М. Несіна (2006) встановили, що у дітей 6-15 років, хворих на ХВГ В, активна вірусна реплікація з віком знижується, а кількість хворих дітей в інтегративній фазі зростає. Пік реплікативної активності діагностовано у групі підлітків віком 12-14 років. Цю закономірність автори пояснюють персистуванням хронічної HBV-інфекції, першою фазою якого є активна реплікація, другою – імунна елімінація, а третьою – інтеграція [303, 334, 438, 452].

Відомо, що прояви астеновегетативного та геморагічного синдромів мають тенденцію до збільшення у дітей із фазою інтеграції (ФІ) HBV-DNA чи латентною стадією (ЛС) при HCV-інфекції, і, відповідно, зі збільшенням тривалості захворювання. Прояви диспептичного, абдомінального та астеновегетативного синдромів, на думку авторів, не залежать від ступеня активності патологічного процесу у дітей з ХВГ В, тоді як виразність геморагічного та жовтяничного синдромів, навпаки, вірогідно підвищувалася у дітей з низьким ступенем активності. У хворих на ХВГ В переважає ЦС та МЗС, виразність яких не залежить від фази вірусної реплікації, проте виразність ЦС залежить від ступеня активності патологічного процесу. У всіх дітей, хворих на ХВГ В, спостерігається порушення коагуляційного гемостазу у вигляді зниження вмісту фібриногену [95, 225].

З літературних джерел відомо, що клінічний перебіг як гострих, так і ХВГ у дітей різного віку має певні особливості. Так І. А. Московская та співав. (2003) встановили, що у дітей першого року життя, які були інфіковані НВV перинатально, розвивається ПХВГ з ураженням нирок. Незважаючи на нетривалий термін хвороби, підвищення гістощільності паренхіми печінки документувалось навіть у дітей першого місяця життя. У 40 % інфікованих даним шляхом дітей на другому півріччі життя діагностовано фіброз, в 1 дитини із 12 у віці 3 місяців розвинулась картина фульмінантного гепатиту. Тоді як при парентеральному інфікуванні НВV захворювання хоча і має тенденцію до затяжного перебігу, проте завершується видужанням з елімінацією вірусу. Перинатальний ВГ С діагностовано у 9 із 32 дітей першого року життя, хворих на ВГ. У 5 хворих до 3-х місячного віку сформувався ПХВГ С, який за клінічними проявами майже не відрізнявся від перинатального ХВГ В. Проте на відміну від хворих з ХВГ В порушення функцій нирок не спостерігається [26].

Аналіз перебігу ВУВГ [84, 308] свідчить про розмаїття його клінічних проявів. Досить характерними є: жовтяниця, гепатоспленомегалія, геморагічний синдром. Типовим є поєднання з іншими інфекційними процесами, які розвинулися як анте-, так і постнатально.

Відомо, що незважаючи на асимптоматичний, малоактивний природний перебіг НCV-інфекції у дітей, інфікованих з народження чи у ранньому віці, через 13 років з моменту інфікування у 100 % випадків реєструється сформований фіброз печінки, підтверджений морфологічно, в одному – діагностована ГЦК. Наведені факти вказують на несприятливий прогноз ХВГ у більшості дітей першого року життя, незважаючи на бідну клінічну і біохімічну симптоматику, що має стимулювати науковців до пошуку адекватних засобів терапії з метою лікування даної патології та попередження розвитку негативних наслідків [278, 308].

У дівчат-підлітків ВГ характеризується затяжним перебігом із розвитком внутрішньопечінкового холестазу, що пояснюється

гіперестрогенемією. Також розвивається геморагічний синдром та васкуліти. При ХВГ у підлітків частіше, у порівнянні з дітьми у більшому ступені, і у порівнянні з молодими людьми у меншому ступені, реєструється виразний ступінь фіброзу печінки за даними ультразвукового дослідження та еластографії печінки. Крім того, у підлітків, особливо у дівчат, у порівнянні з хворими інших вікових груп, при ХВГ значно частіше зустрічаються позапечінкові судинні знаки, що пов'язано із блокуванням метаболізму стероїдних гормонів у печінці [15].

При ХВГ у підлітків порушуються реологічні властивості еритроцитів і показники вмісту оксиду азоту, які корелюють із глибиною ураження мікроциркуляторного русла печінки, що пов'язано із розвитком синдрому підвищеної в'язкості крові та сповільненням току крові [15].

Про найбільш істотні зміни у підлітків при ХВГ С вказують [55], що полягають у порушенні ліпідного обміну у вигляді підвищення рівнів тригліцеридів сироватки крові, холестеролу та ліпопротеїдів низької щільності. На думку авторів, це пов'язано не лише із значними гормональними змінами у пубертатний період, а і з загостренням на цьому тлі усіх хронічних хвороб. З іншого боку, клінічні симптоми ХВГ С у підлітків починають маніфестувати незалежно від тривалості хвороби, і ВГ перебігає як первинно-хронічне захворювання, проте механізми даного явища невідомі.

Відомо, що у хворих з мінімальною та низькою активністю запального процесу переважає ФІ (78 %), у той час як при більш тяжкому ушкодженні печінки досить довго виявляються маркери реплікації вірусу (89,5 %) [44].

В. С. Березенко (2007) [17] досліджувала клініко-патогенетичні особливості фіброгенезу печінки при ХВГ В і С у дітей, віком від 5 до 16 років. Переважав ПХВГ у дітей, інфікованих перинатально або ж у ранньому дитячому віці, що пов'язано із особливостями їх імунного статусу, який сприяє латентному перебігу інфекції та хронізації патологічного процесу в печінці [18]. Це є характерним для «повільних» інфекцій і свідчить про

тривалу компенсацію функціонального стану печінки при даній патології, що підтверджується випадковим встановленням діагнозу у більшості хворих. Фазу реплікації (ФР) вірусу діагностовано у 67,3 % дітей з ХВГ В та у 75,2 % – з ХВГ С, при цьому переважали неактивні та малоактивні форми захворювання (68,3 % при ХВГ В та 86,1 % – ХВГ С) [17].

ХВГ у дітей, незалежно від форми та етіології, часто супроводжується супутніми захворюваннями органів травлення (хронічний холецистохолангіт, дискінезія жовчовивідних шляхів, хронічний гастродуоденіт). Клінічна картина є мало специфічною і визначається ступенем активності запального процесу в печінці та, у меншій мірі, фазою інфекційного процесу. Провідним біохімічним синдромом є ЦС, зумовлений підвищенням продукції прозапальних цитокінів. Високоактивний гепатит діагностується у 10 % дітей з ХВГ В, помірно активний – у 21,4 % з ХВГ В та 17,1 % з ХВГ С, низька і мінімальна активність – 27,1 % при ХВГ В та 43,4 % – ХВГ С. Усі хворі з активним ХВГ знаходяться у ФР, що складає 75,6 %. Варто зазначити, що підвищення активності трансаміназ відбувається лише у ДНК- та РНК-позитивних хворих. Не виявлено чіткої залежності між концентрацією ДНК-НВV та РНК-НСV у сироватці крові та біохімічною активністю гепатиту [17, 234].

Гепатомегалія та спленомегалія, як прояв активного інфекційного процесу, реєструються відповідно у 78,4 % та 20 % випадків. Прояви МЗС зустрічаються, як правило, у хворих з високо та помірно активним гепатитом. У дітей з мінімально активним ХВГ В і С, окрім помірного цитолізу, відмічається тенденція до зниження білоксинтезуючої функції печінки, а також проявів МЗС у вигляді підвищення тимолової проби. Тенденція до зростання цього показника зберігається і при неактивному ХВГ, що, на думку автора, свідчить про прогресивний перебіг патологічного процесу у печінці [17].

Встановлені [17] дані ультразвукового дослідження печінки вказують на наявність фіброзу різного ступеня у 70 % дітей з ХВГ С, у тому числі

РНК-негативних. Ступінь фіброзу у таких хворих корелює з тривалістю захворювання та активністю запального процесу у печінці.

Інтенсивність процесів синтезу і розпаду колагену відображають фракції гідроксипроліну [2, 17, 89, 159].

На думку [17], саме особливості перебігу ХВГ у дитячому віці визначають характер процесів фіброзування, про що свідчить і встановлений дисбаланс між процесами синтезу і деструкції сполучної тканини (СТ) в бік посилення синтезу, незалежно від форми гепатиту. Максимальний синтез колагену має місце при активному ХВГ, про що свідчить підвищення вмісту в сироватці крові білковозв'язаного гідроксипроліну, який характеризує колагеноутворення, у 3 рази при високоактивному ХВГ В та у 2,5 – у дітей з помірно активним ХВГ С. У цих хворих має місце і вірогідне підвищення вільного гідроксипроліну (ВГОП), який відображає процеси синтезу і деструкції незрілого колагену на тлі зниження еластазної активності. На думку автора, такий метаболізм СТ спрямований на збереження структури та об'єму органу в умовах виразного некрозапального процесу в печінці. При менш активному перебігу ХВГ, особливо в період ремісії, зростає активність еластази та знижується інтенсивність колагеноутворення, проте у порівнянні зі здоровими дітьми залишається підвищеною. Зростання в сироватці крові вмісту білковозв'язаного гідроксипроліну більше 60 мкмоль/л, ВГОП – більше 13 мкмоль/л вважається високочутливими показниками фібропластичного процесу у печінці.

Таким чином, автор констатує, що реплікація вірусу, навіть при відсутності активного запалення, стимулює процеси колагеноутворення в печінці у дітей з ХВГ В та ХВГ С. У хворих з неактивним ХВГ В, на відміну від ХВГ С, спостерігається підвищений метаболізм синтезованого колагену, що свідчить про більш високі гомеостатичні можливості в обміні СТ при цій формі гепатиту. В той же час, як в період ремісії ХВГ С, виявлено пригнічення метаболічних процесів, спрямованих на деструкцію новоутвореної СТ в печінці [17].



Встановлено, що активація фіброгенезу у печінці дітей з ХВГ відбувається на тлі зниження функціональної активності системи L-аргінін – NO. Зниження вмісту в сироватці крові основного донатора NO – L-аргініну відбувається у 94,8 % дітей як з ХВГ В, так і з ХВГ С. Максимальне зниження цієї амінокислоти мало місце у хворих з помірно активним ХВГ В. Нормалізація синтезу оксиду азоту (NO) спостерігалася в період ремісії лише у дітей із ХВГ В, тоді як при ХВГ С синтез цієї активної молекули підвищувався, проте не відновлювався, що підтверджує роль дефіциту NO в активації фібропластичних процесів при ХВГ. Зниження синтезу NO, як прояв ендотеліальної дисфункції, підтверджується виявленим у цих групах хворих порушенням мікроциркуляції та реактивності судин середнього калібру [17].

Як відомо, природній перебіг ХВГ В у дітей включає різні фази, що відображає динаміку взаємодії між макроорганізмом і вірусом: імунна толерантність, імунний кліренс та неактивну нереплікативну фазу (інтеграції) [303, 334, 340, 438, 452, 459]. Фаза імунної толерантності характеризується високим рівнем віремії та мінімальним ушкодженням печінки [452], та є характерною для дітей, народжених HBeAg-позитивними матерями. Персистенція вірусу триває роками чи десятками років. Фаза імунного кліренсу характеризується підвищенням АЛТ, що відображає імунно-опосередковану елімінацію інфікованих гепатоцитів. Сероконверсія HBeAg у anti-HBe є ознакою переходу у низько- чи нереплікативну фазу (неактивна фаза із наявністю HBsAg), яка характеризується стійким нормальним рівнем АЛТ та рівнем ДНК-HBV у сироватці нижче  $10^4$  копій/мл [372]. Прогноз є більш серйозним у дітей, що перебувають у фазі імунної толерантності, проте ускладнення, такі як ЦП та ГЦК, зазвичай виникають у дорослому віці [304, 394]. І навпаки, більшість дітей, що перебувають у фазі інтеграції, стають неактивними носіями після anti-HBe сероконверсії, як правило це відбувається після 20 років [385]. Цироз, ГЦК, реактивація вірусної

реплікації та ушкодження печінки після настання сероконверсії відбувається рідко [372, 459].

Патогенез природнього перебігу ХВГ С, набутого у ранньому віці, на сьогоднішній день є недостатньо вивченим. Встановлено, що вік дитини та тривалість захворювання корелюють зі стадією фіброзу. Тоді як стать, генотип вірусу та перебіг не корелюють зі стадією фіброзу. Вважається, що ХВГ С, набутий у ранньому дитинстві, є прогресуючим, повільно перебігаючим захворюванням, що завершується фіброзом [365].

За даними [385], у більшості дітей із HCV-інфекцією, перебіг асимптоматичний, з мінімально виразною гепатомегалією та неспецифічними симптомами, оскільки відомо, що вірус гепатиту С здатний пригнічувати апоптоз вірус-інфікованих клітин [344]. Незважаючи на це, у більшості перинатально інфікованих дітей реєструється періодично чи постійно підвищений рівень трансаміназ, особливо протягом перших двох років життя [351, 387].

Досліджений природній перебіг, гістологічні зміни та наслідки HCV-інфекції у дітей, інфікованих з народження чи у ранньому віці. У більшості дітей клінічний перебіг асимптоматичний, у 25 % дітей активність АЛТ перебуває у межах норми, у 62 % – підвищується від 1 до 3 разів та понад 3 разів – у 13 %. Рівень сироваткового білірубіну, альбуміну та заліза у всіх хворих перебуває у межах норми. Автори встановили, що вік дитини у момент інфікування та сироваткова  $\gamma$ -глутамілтранспептидаза (ГГТП) корелює із ступенем фіброзу; активність АЛТ – із виразністю запалення [308, 475].

Надзвичайно актуальною на сьогоднішній день залишається проблема неінвазивної діагностики фіброзу та ЦП у дітей із хронічною патологією печінки. Це пов'язано із швидкими темпами прогресування фіброзу у дітей, а також із обмеженим застосуванням інвазивного методу діагностики даної патології шляхом біопсії печінки. Окрім того, потреба регулярного контролю ефективності проведеного лікування потребує розробки швидкого

неінвазивного методу моніторингу за станом фібротичних змін у печінці, що також обмежує біопсійний метод діагностики через неможливість його частого застосування [151, 152]. Існує ряд запропонованих методик неінвазивної діагностики фіброзу та ЦП, більшість із них передбачає комплексне застосування декількох біохімічних показників [24, 212, 330, 366]. Враховуючи наведене вище, розробка швидких високочутливих методів скринінгової діагностики фіброзу та ЦП у дітей з хронічною патологією печінки, а також для проведення моніторингу ефективності проведеної терапії, є актуальним питанням сьогодення.

Отже, невирішеними питаннями на сьогоднішній день залишаються: патогенез ХВГ В і С у дітей різного віку, особливо механізми хронізації у перинатально інфікованих дітей, а також критерії прогресивності перебігу.

## **1.2. Стан цитокінової регуляції та імунного статусу у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С**

Глибина пізнання матеріального субстрату хвороби (аж до молекулярного рівня) дозволяє встановити її істинну суть, визначити терапевтичну тактику і профілактичні заходи [153, 205, 240]. Удосконалення діагностики і лікування ХВГ у дітей, безперечно, пов'язано зі знанням клітинних і молекулярних механізмів запалення в печінці, що розкривають суть патологічного процесу [23, 30, 64, 110, 142, 153, 164, 193, 236, 260]. Протягом останніх років розкрита вагома роль цитокінів у здійсненні противірусного імунітету та регуляції запалення [358, 462]. Порушення функціонування системи регуляторних цитокінів при ВГ може бути одним із механізмів розвитку несприятливих наслідків гострого ВГ В, а саме виникнення ГПН, формування ПХВГ і хронічних форм і/або переходу в ЦП і ГЦК [23, 36, 113, 224, 243].

Цитокіни беруть участь у процесі регуляції специфічної імунної відповіді. Від того, які з цитокінів перебувають в оточенні Т-лімфоцитів під

час контакту з патогеном, залежить за яким типом (клітинним або гуморальним) відбуватиметься подальший процес імунної відповіді організму [47, 64, 82, 93, 194, 291, 423]. Цитокіни регулюють інтенсивність запальних, імунних, аутоімунних реакцій, проліферацію та апоптоз клітин [40, 43, 75, 100, 252].

Одним із ключових регуляторів імунної та запальної відповіді є інтерлейкін-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), який одним з перших включається до відповідної захисної реакції при дії патогенних факторів [30, 260, 515, 516]. Цей цитокін індукує продукцію IL-2, IL-3, IL-6, інтерферону- $\gamma$  (ІФН- $\gamma$ ) та фактору некрозу пухлин (TNF). Саме IL-1 $\beta$  належить важлива роль в активації Т-лімфоцитів, які і визначають клітинний характер специфічної імунної відповіді [30, 260, 269, 423].

IL-1 володіє прямою противірусною активністю та сприяє пригніченню реплікації HCV [545]. Крім того, цей цитокін пригнічує активність позаклітинної регуляторної кінази та опосередковано стимулює синтез ІФН. IL-1 також бере участь у механізмах формування фіброзної тканини в печінці хворих на ВГ за рахунок стимуляції продукції колагену [23;64, 350, 423, 502, 531].

IL-6 бере участь у процесах фіброзування у хворих на ХВГ В та ХВГ С. Встановлено, що підвищення концентрації цього цитокіну у таких хворих прямопропорційне ступеню розвитку фіброзу печінки [269, 320, 408].

IL-8 – важливий хемокін, який бере участь у патогенезі ВГ [110, 142, 160, 234, 260, 423, 515]. Доведено, що IL-8 інгібує антивірусну активність ІФН- $\gamma$  *in vitro* [238]. У дорослих, хворих на ХВГ С, збільшується вміст IL-8 у сироватці крові паралельно із збільшенням активності АЛТ, а також із посиленням фіброзування печінки [140, 158, 238, 475].

Фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) є одним з найяскравіших прозапальних цитокінів [193, 203, 260, 423, 515]. Разом з тим, підвищений протягом тривалого часу рівень TNF- $\alpha$  пригнічує активність Т-хелперів (Th)

1 типу, пригнічуючи клітинну імунну відповідь, що, вірогідно, сприяє активації реплікації вірусів [243, 391].

Експресія mRNA прозапальних цитокінів, у тому числі і TNF- $\alpha$ , виявлена у зонах мононуклеарної інфільтрації в печінці, причому значимої різниці між ХВГ В та ХВГ С не було знайдено, що свідчить про подібність їх імунопатогенезу [243].

TNF- $\alpha$  володіє широким спектром регуляторної активності. Вміст TNF- $\alpha$  у сироватці хворих на ВГ відображає його рівень в печінці, що значно зростає зі збільшенням некрозапальної активності у дорослих та дітей. Наявність цього цитокіну у крові відмічено на ранніх етапах ВГ [243, 391, 444, 515, 516, 544]. Відома його роль у розвитку патологічного процесу при ВГ В та С, механізмах формування ХВГ. Низька концентрація TNF- $\alpha$  та IL-2 при ХВГ С свідчить про недостатню імунну відповідь, яка супроводжується тривалою циркуляцією вірусу та його активною реплікацією [31, 57, 82, 206, 269].

TNF- $\alpha$  є важливим елементом противірусного захисту, вірогідно, за рахунок стимуляції синтезу ІФН- $\beta$  та ІФН- $\gamma$  [140], а також пригнічуючи реплікацію ряду вірусів, у тому числі HBV [502]. Відомо, що апоптоз інфікованих гепатоцитів, опосередкований цим цитокіном, перешкоджає нормальному циклу реплікації гепатотропних вірусів [391, 402, 535].

За даними [391, 444], TNF- $\alpha$ , з одного боку, необхідний для проліферації гепатоцитів і попередження їх апоптозу при регенерації печінки, з іншого – є медіатором гепатотоксичності при бактеріальних, вірусних і токсичних впливах. TNF- $\alpha$  бере участь також у фіброгенезі, може володіти як про-, так і протифіброгенними властивостями [350, 531]. Підвищення секреції TNF- $\alpha$  було виявлено і при експериментальному CCl<sub>4</sub>-індукованому цирозі у порівнянні з контролем [355]. У дослідях *in vitro* TNF- $\alpha$  пригнічував колагеногенез, але *in vivo*, вірогідно, переважають його профібротичні властивості, оскільки він активує трансформацію ЗК Іто в міофібробласти, потенціює ефекти потужного стимулятора синтезу

колагену – TGF- $\beta$  [536]. Підвищений вміст TNF- $\alpha$  у сироватці крові дітей та дорослих із ХВГ В, ХВГ С і ХВГ В+С корелює зі ступенем фіброзу печінки [158, 243, 333, 515].

За результатами спостережень [68], надлишкова секреція TNF призводить до збільшення об'єму гепатоцитів і спричиняє розвиток гепатомегалії. Підвищення рівня TNF- $\alpha$  при ХВГ С може спричинити посилення апоптозу гепатоцитів внаслідок захоплення гепатоцитами амінокислот і порушення мітохондріального дихання. У зв'язку з цим можна передбачити, що знижена продукція TNF- $\alpha$ , виявлена у пацієнтів з тривалою персистенцією HCV, є ознакою переходу гострого інфекційного процесу в хронічну, млявоперебігаючу стадію [75]. Згідно до результатів останніх досліджень [380], TNF- $\alpha$  може спричинити розвиток інсулінорезистентності у хворих на ХВГ С.

Відомо, що одним із синергістів TNF- $\alpha$  є IL-2, що здатний ініціювати і регулювати клітинну імунну відповідь. Активовані Т-клітини продукують даний цитокін та експресують високоафінні рецептори до IL-2 (CD25+) [143]. IL-2 має ключову роль в індукції клітинної ланки імунітету, адже саме він зі своїм рецептором слугує сигналом для активації клітинного циклу і проліферації Т-клітин. Знижені показники рівня цього цитокіну при ХВГ С свідчать про недостатню клітинну імунну відповідь [112, 209]. При помірному та високому ступені активності запального процесу в печінці виявлено більш низький рівень цього цитокіну, ніж в осіб з мінімальною та низькою активністю [75]. Підвищений рівень розчинного рецептору IL-2 (sIL-2R) у дітей з неактивним ХВГ В свідчить про активацію HBV Th1 лімфоцитів та їх участь в прогресивності патологічного процесу в печінці навіть при безсимптомному перебігу захворювання. Тривале підвищення сироваткової концентрації IL-2 не тільки призводить до суттєвого збільшення концентрації ряду прозапальних цитокінів (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), але поглиблює дисбаланс між окремими цитокінами з незначним збільшенням

протизапальних (IL-4, IL-10), що підтверджує наявність гуморального імунодефіциту при ХВГ В [111, 143, 207].

Відомо, що повноцінність імунної відповіді організму на вірусну інфекцію значною мірою залежить від достатньої продукції інтерферону (ІФН). Однією з умов, що сприяє формуванню ХВГ В і С, визнається порушення у системі ІФН і зниження його синтезу лімфоцитами і макрофагами [164, 234, 259, 333, 413]. Відомо, що у дітей та дорослих із ХВГ патогенетично значимим є різке пригнічення продукції ІФН- $\alpha$ , що визначає недостатній захист інтактних гепатоцитів, не обмежує розповсюдження вірусу з інфікованих клітин та призводить до хронізації інфекційного процесу [36, 234, 272, 413, 469].

Посилення продукції ІФН- $\gamma$  призводить до активації генів HLA та визначає цитотоксичний ефект у відношенні HBV-інфікованих гепатоцитів. Такий механізм доведений при гострому та хронічному ВГ В у дорослих. Посилення Т-клітинної реакції супроводжується загостренням HBV-інфекції, прогресуванням цитолізу гепатоцитів, підвищенням АЛТ [272].

За даними [36, 112, 234, 413], зменшення продукції ІФН- $\gamma$  вказує на депресію Т-хелперів (Th) 1 типу, створює умови для персистенції HBV та HCV-інфекції, з наступним розвитком позапечінкових проявів. Вважається, що у дітей клітинна Th1-залежна імунна відповідь, яка є необхідною для захисту від вірусів, експресована слабо чи взагалі відсутня. Крім того, виявлена селективна супресія синтезу хемокіну IL-8. Пригнічення продукції ІФН- $\gamma$  та IL-8 сприяє «виживанню» гепатотропних вірусів і надає процесу первиннохронічного перебігу [36, 234, 328].

Відомо, що ІФН сприяє експресії антигенів великого комплексу гістосумісності (МНС) I класу на мембранах гепатоцитах, на яких зазвичай ці антигени представлені слабо [373]. Підвищення їх експресії на поверхні гепатоцитів має принципове значення, оскільки призводить до посилення розпізнавання комплексів HBV-МНС-антигени імунокомпетентними клітинами з наступною направленою активацією Т-кілерів та натуральних

кілерів (NK). Екзогенно введений ІФН призводить до посилення власного інтерферогенезу, створюючи так званий праймінг-ефект [259].

ІФН- $\gamma$ , що продукується CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитами, діє на клітини Купфера, індукуючи секрецію TNF- $\alpha$  та опосередковане ушкодження гепатоцитів. Як ІФН- $\gamma$ , так і TNF- $\alpha$ , є важливими чинниками у процесі ушкодження, проте TNF- $\alpha$  діє швидше, як аутокринний посилювач функції клітин Купфера, аніж чинник, що викликає пряме ушкодження печінки [373].

Наявність реплікації HBV та HCV, у тому числі і в периферичних мононуклеарах, циркуляція імунних комплексів, пряма пригнічуюча дія збудника на функцію деяких систем, відіграють важливу роль у патогенезі ХВГ, визначаючи ураження інших органів з наступним розвитком позапечінкових проявів [382, 388, 413].

Процеси надмірної активації макрофагів та гіперпродукцію цитокінів прозапальної спрямованості стримують протизапальні цитокіни [269], до яких належить ІЛ-4, який продукується в основному Th 2 типу. За сучасними уявленнями, ІЛ-4 у комплексі з ІФН- $\gamma$  є ключовим фактором, що визначає тип імунної відповіді [225, 260, 423]. ІЛ-4 разом з ІЛ-10 гальмує виділення ІФН- $\gamma$  Th1, володіє сильним антагоністичним ефектом проти звільнення моноцитами ІЛ-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8, та ІЛ-12. Також ІЛ-4 посилює проліферацію фібробластів та пригнічує індукцію NK [64, 143, 260, 423, 515].

У крові здорових осіб ІЛ-4 практично не визначається. Його вміст зростає у периферичній крові у хворих на ХВГ В і С у період загострення захворювання. Під час ремісії та в процесі лікування рівень ІЛ-4 знижується [110, 213, 260, 291].

Відомо [213, 291, 516], що ІЛ-10 володіє протизапальною, імуномодулюючою та імуносупресивною дією, здатний гальмувати продукцію цитокінів Th 1 типу, моноцитами, макрофагами. Однією з його функцій є стимуляція проліферації і диференціації активованих В-лімфоцитів, Т-супресорів, а також активація NK-клітин. Доведено, що ІЛ-10 бере участь у механізмах фіброзування печінкової тканини [412]. Висока



концентрація цього цитокіну у сироватці крові хворих на ХВГ пов'язується з підвищеним ризиком розвитку ГЦК [64, 143]. З іншого боку, існують дані, що ІЛ-10 здатний інгібувати активацію ЗК в експерименті та спричиняти апоптоз активованих ЗК [345].

Трансформуючий фактор росту- $\beta 1$  є багатофункціональним імунорегуляторним цитокіном, що володіє протизапальною активністю й імуносупресією [69, 256, 501]. Виявлено зв'язок між збільшенням концентрації TGF- $\beta 1$  й активацією фіброзу у печінці хворих на ХВГ В [17, 70, 213, 291, 516, 533], а також ХВГ С [17, 238]. У дітей з ХВГ С на тлі неадекватної продукції прозапальних цитокінів відмічається постійна активація профіброгенного TGF- $\beta 1$ , що свідчить про безперервну цитокінову стимуляцію колагеноутворення та переважання склеротичних процесів у печінці над запальними [17, 64, 341]. Продукція TGF- $\beta 1$  індукується ІЛ-2, стимулюється – ІЛ-4, а також шляхом аутоіндукції [143].

Відомо, що TGF- $\beta 1$  відіграє роль у неадекватній регенерації печінки при її патології, зокрема, індукує апоптоз, пригнічує регенерацію печінкових клітин, особливо у ділянках швидко прогресуючої проліферації атипових жовчних проток, наприклад, при фульмінатному гепатиті, холестазі чи ГЦК [311, 341, 429, 504].

Цікавим є вплив інсуліноподібного фактору росту-1 (IGF-1) на процеси фіброзування у печінці. Відомо, що IGF-1 найбільш активно продукується і секретується у кров печінкою (90 % від загальної кількості) у відповідь на дію соматотропіну, стимулює проліферацію клітин усіх тканин організму, бере участь в процесах метаболізму, проліферації і диференціювання [327].

При ЦП гепатоцити зменшують секрецію IGF-1, внаслідок зменшення кількості рецепторів до соматотропіну на гепатоцитах [284, 508]. Доведено, що IGF-1 пригнічує запальну відповідь, шляхом зменшення макрофагальної інфільтрації та рівня TNF- $\alpha$ , пригнічує оксидативний стрес [288, 415], а також пригнічує апоптоз [281, 327] за рахунок зменшення проникності

mitochondrial permeability transition pore [539]. Проте в процесі фіброгенезу IGF-1 синтезується клітинами Купфера та Іто [69, 409]. Це вказує на важливість даного фактору у процесі формування ЦП.

Сучасні дослідження вказують на те, що IGF-1 має важливу роль у регуляції апоптозу. На основі результатів проведених експериментальних досліджень було показано, що IGF-1 посилює апоптоз ЗК і водночас – проліферацію міофібробластів (активованих ЗК) [407], які відіграють важливу роль у розвитку і прогресуванні ЦП [69, 417]. Також відомо, що дисплазія гепатоцитів та розвиток ГЦК можуть бути пов'язані із ушкодженням ДНК та оксидативним стресом на тлі надмірної експресії *insulin receptor substrate-1* та підвищеного рівня IGF-1, який активує проліферацію [312, 426, 427, 468]. З іншого боку, абсолютно протилежні дані наводять [349], які в експерименті встановили, що надмірна експресія IGF-1 активованими ЗК обмежує їх активацію, послаблює фіброгенез, зменшує вміст TGF- $\beta$ 1 та сприяє регенерації печінки внаслідок збільшення вироблення фактору росту гепатоцитів (HGF) ЗК [410, 411]. За даними [286, 476], HGF є не лише потенціальним мітогеном для гепатоцитів, він також обмежує фіброз печінки *in vivo* у щурів. Тоді як у хворих на ХВГ В із ЦП підвищений рівень HGF та інших факторів росту асоціюють із виразністю запалення та фіброзу, зменшення їх вмісту на тлі ІФН-терапії вважають позитивним ефектом. Введення малих доз IGF-1 щурам з експериментальним ЦП чинить захисну дію на мітохондрії, зменшує апоптоз та збільшує вироблення АТФ [453], зменшує оксидативний стрес, проявляє гепатопротекторну та антифібротичну дію [287, 288]. Відомо [348], що естрогени стимулюють секрецію та потенціюють дію IGF-1. Отже, наведені у літературі дані щодо ролі IGF-1 у фіброгенезі печінки суперечливі, проте слід враховувати, що механізми фіброзу печінки відрізняються у людей і тварин [425].

Отже, провідну роль в ініціації реакцій клітинного імунітету відіграє викид активованими макрофагами регуляторних цитокінів – TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$

[30, 224, 260, 269, 423].

На сьогоднішній день встановлено, що у дітей при ВГ розвивається транзиторна чи постійна лімфопенія, а також порушення секреції лімфокінів лімфоцитами [100, 320, 408]. Це призводить до зниження імунологічної реактивності та опірності дитячого організму проти пониклого патогена. Разом з тим перебіг HBV- та HCV-інфекції визначається складною взаємодією між різними складовими антивірусного імунітету.

Відомо, що при гострому ВГ В у дітей рівень TNF- $\alpha$  у 2-15 разів перевищує норму. Гіперпродукція IL-1 $\beta$  відмічається у хворих з високим рівнем TNF- $\alpha$  [94]. Слід відзначити, що більшість хворих із затяжним перебігом ВГ В мали дуже низький рівень IL-1 $\beta$  та високий – IL-4, що сприяє наступній хронізації. Наявність у крові хворих на гострий ВГ В гіперпродукції прозапальних цитокінів індукує секрецію протизапальних цитокінів, у тому числі IL-4, які призначені стримувати процес надмірної активації макрофагів, який веде до руйнівних наслідків. Тому підвищення рівня IL-4 закономірно і з позиції єдиної цитокінової системи, що регулює запальні процеси в організмі [23].

Підвищення IL-6, що спостерігається при гострому ВГ В у дітей, може бути пов'язано з підвищенням проліферативної активності гепатоцитів [269].

Низький рівень IL-1 $\beta$  чи його відсутність у сироватці крові хворих, за даними свідчить про неможливість повноцінної клітинної відповіді. Тому пацієнти, які не мають підвищення IL-1 $\beta$ , є претендентами на хронізацію чи формування ПХВГ [23].

У дорослих, хворих на ХВГ В, ХВГ С та ХВГ В+С, рівень прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-6 та TNF- $\alpha$ ) зростає, у більшій мірі у пацієнтів з ФР, ЦП та у хворих з високою активністю трансаміназ. Отримані результати свідчать про спільність патогенетичних механізмів ураження печінки вірусами. Все ж таки, на думку автора, можна відмітити, що у пацієнтів з ХВГ В+С рівень IL-1 $\beta$ , IL-6 та TNF- $\alpha$  дещо нижчий, ніж у

пацієнтів з моноінфекціями, що можна пояснити «конкуренцією» вірусів між собою [126].

Високі показники протизапального ІЛ-4, а також низькі – ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та  $\text{TNF}\alpha$  відповідають активній реплікації вірусу та недостатній за силою імунній відповіді, що сприяє збереженню циркуляції HCV та його вислизанню з-під імунного нагляду. Найбільш високі показники ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та  $\text{TNF}\alpha$  засвідчують низьку реплікативну активність, високий рівень цитолізу активність запального процесу у дітей і дорослих [17, 87, 265].

За даними [95, 96, 308], у дітей із ХВГ С, віком від 1,5 до 15 років, у ФР з активністю трансаміназ понад 1,5-8 разів вище норми і тривалістю хвороби менше 6 років, реєструється зростання рівня сироваткового ІФН- $\alpha$ , а також  $\text{TNF}\alpha$ , вагоме зменшення ІФН- $\gamma$ , та помірне – ІЛ-4. Коефіцієнт ІФН- $\gamma$ /ІЛ-4 – зменшується при переважанні Th 2 типу у дітей, хворих на ХВГ С.

Зменшення вмісту Th1 прозапальних цитокінів (ІЛ-2 та ІФН- $\gamma$ ) супроводжується одночасним підвищенням вмісту Th2 протизапальних цитокінів (ІЛ-4 та ІЛ-10) у дорослих із ХВГ С незалежно від ступеня активності запального процесу у печінці як у сироватці крові [112, 195, 208], так і в супернанті біоптатів печінки [208]. Це вказує на значний вплив Th 2 типу і перевагу гуморальної реакції при ХВГ С [112, 195]. Тоді як відомо [328, 519], що саме активація Th2 асоціюється з більш активним процесом фіброгенезу. Це пояснює той факт, що при ХВГ С фіброз та ЦП розвивається швидше, ніж при ХВГ В. На думку [208] значне зростання у сироватці крові ІЛ-4 та ІЛ-10 може слугувати сироватковими маркерами фіброзу печінки у пацієнтів з ХВГ С.

Встановлено, що у сироватці крові дітей віком від 6 до 15 років, хворих на ХВГ В, підвищення ІФН- $\alpha$  відбувається при зростанні активності запального процесу і знижується при його відсутності, а також вірогідно зростає у ФР та практично не змінюється у фазі інтеграції (ФІ). Тоді як ІФН- $\gamma$  вірогідно підвищується як у ФР так і у ФІ, незалежно від біохімічної активності патологічного процесу. На думку авторів, значне збільшення

продукції ІФН- $\alpha$  у хворих дітей з наявністю активної вірусної реплікації, можна розцінювати як показник активації механізмів регуляції імунної системи [96].

Таким чином, результати проведеного аналітичного огляду літератури, а саме : комплексні дослідження системи цитокінів та її впливу на імунні процеси у дітей при ХВГ В та ХВГ С, виявили виразні порушення системи цитокінів, дефіцит і порушення в системі клітинного імунітету, дефект інтерферогенезу. Вказані порушення відрізняються стійкістю, зберігаються протягом багатьох місяців та років, і мають принципове значення для персистенції НВV- чи НCV- індукованого хронічного процесу в печінці, внаслідок порушення співвідношення про- та протизапальних цитокінів.

Проте представлені у літературі дані стосовно цитокінового профілю при ВГ у дітей, особливо у віковому аспекті малочисельні, не є однозначними і кінцевими. Невідомі вікові аспекти продукції про- та протизапальних цитокінів у дітей, хворих на ХВГ, особливо при перинатальному їх інфікуванні. Нез'ясовані механізми хронізації ВГ В і С у дітей різних вікових груп та впливу на ці процеси цитокінів. Це визначає актуальність їх подальшого дослідження та співставлення рівня основних про- і протизапальних цитокінів із показниками біохімічного та імунного статусу хворих на ХВГ дітей, у залежності від активності і форми запального процесу, а також встановлення вікових особливостей цитокінового профілю при даній патології.

Загально визнано, що ВГ є імунологічно-опосередкованою інфекцією, оскільки перебіг та наслідок хвороби обумовлені не лише патогенними властивостями інфікуючого агенту, а реакцією імунної системи організму на вірус, який проник у гепатоцити. Основну роль в імунній відповіді відіграє клітинна ланка імунітету [38, 193, 204, 268, 332]. Підкреслюється [1, 81, 247], що важливе значення у розвитку імунопатологічних станів при ВГ має порушення взаємозв'язку регуляторів імунної системи – субпопуляцій

лімфоцитів. Як відомо [100, 103, 220, 320, 408, 498], у дітей при ВГ розвивається транзиторна чи постійна лімфопенія і порушення секреції лімфокінів лімфоцитами.

На думку науковців, у процесі розвитку ХВГ зміни в імунній системі, індуковані HBV, мають складний і неоднозначний характер. За даними [114, 234], з одного боку вони проявляються реакцією макроорганізму, яка спрямована проти збудника (синтез специфічних антитіл, становлення клітинного імунітету та ін.), з іншого – виникають імунологічні зсуви, що підтримують і посилюють запальні зміни в печінці, гальмуючи ефективну елімінацію збудника.

У патогенезі ХВГ В головна роль належить імунним порушенням, зокрема недостатній по силі і специфічності відповіді цитотоксичних лімфоцитів на антигени вірусів, а також дисбалансу в системі Т-хелперів з домінуванням Th 2 типу і переважним стимулюванням гуморальної імунної відповіді. Тоді ж як домінування Th 1 типу та їх цитокінів відіграє важливу роль у звільненні від вірусу при гострому та хронічному гепатиті В [81, 298, 315, 331, 333]. Особливостями імунних аспектів патогенезу ВГ у дітей є незрілість їх імунної системи, особливо в перинатальному віці [303].

В.Ф. Учайкін та співав. (2003) вважають, що імунні порушення, які розвиваються протягом захворювання, можуть мати важливе значення для становлення імунної системи дитини і прогнозу захворювання, сприяючи більш частій хронізації гепатиту у порівнянні з дорослими [234]. Встановлено, що при HBV-інфекції утворені клони вірус-специфічних Т-лімфоцитів володіють слабкою функціональною активністю, що визначає часту неповноцінність імунної відповіді [331].

Узагальнюючи дані літературних джерел, можна відмітити, що ХВГ В притаманний стійкий вторинний імунодефіцит Т-ланки. У стадію загострення хвороби відбувається як абсолютне, так і відносне зниження Т-клітин у дітей та посилюється із збільшенням активності запального процесу [234]. Відомо, що імунні порушення залежать від фази інфекційного процесу.

Так частка CD8+ при ХВГ В є більшою, а кількість CD4+ – меншою у ФР у порівнянні з такими при ФІ/ЛС [331, 340].

У періоді ремісії ХВГ В вміст Т-клітин наростає, хоча не досягає нормального рівня. Вважають, що Т-лімфопенія у хворих на ХВГ В обумовлена накопиченням лімфоцитарно-пригнічуючого фактору, токсичною дією білірубіну, перерозподілом Т-лімфоцитів та їх переважною міграцією у вогнище патологічного процесу, тобто до печінки [21]. Хоча, за даними [234, 359], вміст Т-лімфоцитів у печінці хворих на ХВГ В не перевищує такого в периферичній крові.

За даними [68, 102, 193, 204, 220], тривала і потужна стимуляція імунодомінантними епітопами може призвести до виснаження клону Т-клітин, коли вони стають толерантними після пролонгованої стимуляції чи навіть після слабкої проліферації. Цьому сприяє високе вірусне навантаження. Пролонгована стимуляція імунодомінантних Т-лімфоцитів здатна індукувати їх загибель шляхом апоптозу. Ці Т-лімфоцити можуть контролювати вірусну реплікацію, але не здатні елімінувати вірус, що нерідко спостерігається при ХВГ.

У дітей, хворих на ХВГ В, паралельно зі зменшенням рівня Т-лімфоцитів спостерігається зниження їх проліферативного потенціалу. За даними [1, 234], виявляється зниження рівня як Т-хелперів (CD4+), так і Т-ефекторів (CD8+).

Відомо, що CD8+ Т-лімфоцити сприяють фіброзу печінки через активацію ЗК [271, 280, 304, 339, 343, 412], тоді як НК пригнічують фіброз печінки через руйнування активованих ЗК [271, 276, 460, 514]. Нещодавно експериментально доведено, що печінкові інваріантні натуральні Т-кілери (iNKT) відіграють роль у пригніченні фіброзу печінки на ранніх, але не на пізніх стадіях, завдяки пригніченню прозапального ефекту активованих ЗК [451, 481]. TGF- $\beta$  пригнічує проліферацію та цитотоксичність НК, які відіграють найважливішу роль в елімінації HCV [279].

У патогенезі реплікативного варіанту ХВГ В ключовими механізмами є : розвиток імунотолерантності, оскільки в даному випадку у всіх хворих без винятку відсутня сенсibilізація Т-лімфоцитів до НВсAg, а також сильна та пролонгована аутоімунна реакція, що визначає самопрогресуючий характер захворювання [213]. Основною антигенною мішенню для Т-клітинної цитотоксичності є гепатоцити з активною реплікацією HBV і гепатоцити з експресією НВсAg. Проте цей механізм клітинного імунітету не веде до елімінації збудника у хворих на ХВГ В. Отже, на думку В. Ф. Учайкіна (2003), у дітей з ХВГ В не реалізуються повністю усі умови ефективного виконання Т-клітинної цитотоксичності. Також не слід повністю виключати вірогідність цитопатичної дії самого HBV в певній ситуації, наприклад, при його повноцінній реплікації [234].

Окремим питанням слід виділити імунопатогенез ПХВГ В, існування якого, на думку С. Н. Сорінсона (1998), не може викликати дискусій та суперечок. ПХВГ в основному відповідає вродженому гепатиту В з перинатальним інфікуванням від хворої матері. За даними Л. В. Мороз (2002) в Україні відмічається високий рівень інфікованості вагітних вірусами гепатитів В (24,3 %) і С (4,2 %). Інфікування відбувається інтранатально при проходженні плода по пологових шляхах, рідше – трансплацентарно. Вроджений ВГ В характеризується розвитком персистуючої НВs-антигенемії, що реєструється вже в ранньому постнатальному періоді. НВeAg, як правило, відсутній, що пояснюють частою мутацією HBV з утворенням «диких» і мутантних штамів, а також селекцією НВe«-» штамів. По-друге, НВeAg можуть зв'язуватися материнськими анти-НВe, що проходять трансплацентарно. Утворення мутантних штамів описано і при ХВГ С [384]. Обидва названі механізми характеризують повну імунотолерантність і розглядаються як маркери хронізації [126, 310, 317, 384].

Перебіг ВГ В та С у дітей, інфікованих у перші роки життя, має особливості, які пов'язані з імуною відповіддю, багато сторін якої ще не розкриті [234, 255].



Вагому роль в імунопатогенезі ВГ С та хронізації процесу як у дітей, так і дорослих, на думку [25, 100, 114, 225, 234, 270, 328, 331], має стійка кількісна і якісна недостатність CD4+ – Т-хелперної відповіді, особливо, на ранніх етапах інфекції, незалежно від ступеня активності у фазі загострення захворювання. За даними [25], зменшення кількості CD4+ у дітей при ХВГ В пов'язано з перерозподілом пулу Т-хелперів, а при ХВГ С і ХВГ В+С – з його виснаженням. Пряма кореляція між кількістю CD4+ у крові та ступенем фіброзу печінки у групі дітей з ХВГ В і ХВГ В+С, на думку автора, дозволяє рекомендувати оцінку рівня CD4+ для судження про ступінь фіброзування. Функціональний дисбаланс ланок імунітету при ХВГ С у бік переважання продукції Th2 та продукованих ними цитокінів, біологічні ефекти яких спрямовані не на елімінацію вірусу, а лише на обмеження інтенсивності і розповсюдженості запалення в печінці, сприяє тривалій вірусній агресії, яка супроводжується активним фіброгенезом, що обумовлює тяжкість ураження печінки [75, 272, 328].

Відомо, що виразність і варіабельність CD8+ – цитотоксичної відповіді при ХВГ С може бути різною – від мінімальної до виразної, що проявляється не лише в печінці, але й у периферичних лімфоцитах [210, 270, 386, 414, 529]. Вірус здатний персистувати навіть при наявності активної CD8+ – цитотоксичної відповіді, який стає основним механізмом прогресування ураження печінки. Цитотоксичні CD8+ Т-лімфоцити можуть спричиняти ушкодження печінки двома різними механізмами. Окрім їх прямої цитотоксичної дії, існує також опосередковане ушкодження печінки, що розвивається, коли клітини руйнуються антиген-незалежним шляхом. ІФН- $\gamma$ , що продукується CD8+, діє на клітини Купфера, індукуючи секрецію TNF- $\alpha$  та ушкодження печінки [373, 466, 512]. У деяких випадках у дітей може спостерігатися гіпосупресорна спрямованість Т-клітинного імунodefіциту, що відбивається у зниженні ІРІ, а також збільшення кількості В-лімфоцитів [25, 234].

Доведено, що HCV здатний розмножуватися у Т-лімфоцитах навіть після завершення курсу лікування і призводити до тривалої персистенції вірусу в макроорганізмі, та слугувати джерелом інфекції [382, 388, 389].

Відомо, що вік хворого в момент інфікування є фактором, вплив якого на розвиток і прогресування ХВГ підтверджено популяційними дослідженнями [210, 240]. Самовільний кліренс HBsAg та HBeAg найчастіше спостерігається у осіб від 18 до 40 років. У дітей порівняно з дорослими HBV-інфекція перебігає по-іншому : чим раніше відбулося інфікування, тим частіше відбувається хронізація. Так у інфікованих до одного року ХВГ формується у 90–95 %, у віці від 1 до 10 років – у 40 %, у дорослих – в 5–10 % випадків, проте механізми цього явища не з'ясовані. У дітей збільшена тривалість імунотолерантного періоду з низькими показниками біохімічної та гістологічної активності гепатиту та реплікацією HBV на відносно нижчому рівні. Аналіз попередніх досліджень показує, що у дітей HCV-РНК зберігається у 50–60 %, хоча ознаки хронічного гепатиту, у тому числі гістологічні, виявляються лише у 10 % із них (у дорослих цей показник становить 50–85 %), а ознаки ЦП за період спостереження 10–20 років – лише у 5 %. Особливості перебігу HBV- та HCV-інфекції у дітей можуть бути доповнені даними [72, 528] про значний приріст числа випадків ЦП у віці понад 40 років. Вірогідність розвитку ЦП складає 2 %, 6 %, 10 %, 37 % і 63 % у вікових діапазонах до 20, 21-30, 31-40, 41-50 і старше 50 років відповідно.

Вікові особливості прогресування HBV- та HCV-інфекції, за даними [489, 523], у першу чергу, обумовлені ступенем зрілості і швидкістю інволюції імунної системи господаря. Провідним фактором є незрілість усіх ланок імунітету з виразним імунним відхиленням, яка найбільш суттєва у дітей, віком до одного року. Схильність до вироблення імунологічної толерантності до більшості зовнішніх агентів у дітей до року має під собою глибокий фізіологічний зміст – можливість адаптації організму дитини до існування в умовах навколишнього середовища. Саме тому показники

частоти хронізації HBV- та HCV-інфекції у дітей першого року життя істотно не відрізняються від аналогічних показників у новонароджених.

Є літературні дані [489], які свідчать про існування у дитячому віці принципово нових, ніж Т- і В-клітинних, механізмів протиінфекційного захисту: у дітей після трансплантації серця і тимектомії ризик інфекційних ускладнень не вищий ніж в загальній популяції дітей. У похилому віці вікова інволюція тимусу веде до часткового зняття толерантності Т- і В-лімфоцитів і нелінійному збільшенні активності і швидкості прогресування ВГ [486].

Таким чином, як стан імунної системи, так і складна взаємодія вірусів із макроорганізмом, визначають імунопатогенез ХВГ. Зокрема, неповноцінність імунної відповіді організму, особливо у дітей, істотно обумовлює хронізацію процесу. Проте механізми вікових особливостей імунопатогенезу даної патології у дітей до кінця не вивчені. Особливо актуальним є питання з'ясування механізмів формування ПХВГ у дітей різного віку.

### **1.3. Печінкові та позапечінкові патоморфологічні зміни при вірусних гепатитах В і С у дітей**

Сучасна класифікація ХВГ у постановці діагнозу передбачає сумісну оцінку етіологічних, патогенетичних, клініко-лабораторних та гістологічних даних [138, 260, 525]. Провідна роль відводиться морфологічним дослідженням, оскільки без гістологічної верифікації клінічний діагноз більшості захворювань печінки є недостатньо обґрунтованим, а судити про форму і активність процесу можна лише на основі даних гістологічного дослідження. У випадку безсимптомного перебігу ХВГ морфологічне дослідження є «золотим стандартом» для діагностики [19, 138, 228, 253, 472, 525]. Метою морфологічного дослідження печінки є встановлення характеру її ураження, визначення активності процесу і тяжкості ушкодження, контроль за динамікою процесу, оцінка ефективності терапії. В. Ф. Учайкін та співав.

(2003) підкреслюють, що градація морфологічних змін при ХВГ у дітей принципово важлива як в прогностичному відношенні, так і при вирішенні питання про терапевтичну тактику.

Пункційна біопсія – лише один із засобів діагностики, що мають свої як позитивні, так і негативні сторони. По-перше, запальний процес при ВГ ніколи не уражає відділи печінки у рівному ступені і одночасно. Навіть при розповсюдженому процесі характер змін, ступінь їх виразності у різних відділах органу будуть істотно відрізнятися. Відсутність у представленому матеріалі тих чи інших змін, характерних для ВГ, зовсім не означає, що в інших відділах органу їх немає [84, 370, 472]. Враховуючи цю обставину, а також небезпеку розвитку несприятливих ускладнень пункційної біопсії у дітей, невелику інформативність отриманих зразків і більше того – можливість допущення діагностичних помилок при аналізі малої кількості матеріалу [19, 84, 418], у вітчизняній педіатричній практиці взяття біопсій печінки практикується рідко. Більш надійним у науковому і практичному плані буде оцінка секційного матеріалу, взятого від хворих, які померли від ХВГ та його ускладнень.

Частота гепатиту на дитячому секційному матеріалі, судячи за звітними даними дитячих і перинатальних прозектур Російської Федерації, складає від загального секційного матеріалу у 1992 – 1,4 %, у 1993 – 0,9 %, у 1994 – 0,7 %, у 1995-1998 роках – 0 % [84]. Автори відмічають, що рідка діагностика всіх форм ВГ у померлих дітей всього віку у С.-Петербурзі в той же час супроводжувалась почастищенням тяжких, прихованих форм гепатитів при біопсійному обстеженні осіб призовного віку.

Внутрішньоутробне інфікування HBV та HCV можливе у різні періоди бласто-, ембріо- і фетогенезу з формуванням як різних вроджених вад розвитку, зокрема, атрезії внутрішньопечінкових ходів, так і розвитком внутрішньоутробної інфекції [84]. Серед шляхів проникнення збудника, за даними [6, 44, 84, 91, 145, 309, 440, 449, 455, 485, 503], найважливіше значення має трансплацентарний. Очевидно, що при трансплацентарному

гематогенному інфікуванні збудник по пупочній вені потрапляє у печінку, викликаючи в ній максимально виразні структурні зміни. В роботі І. В. Шарлай і співав. (1971) було показано, що із 48 померлих з клінічним діагнозом «атрезія жовчних шляхів» порушення відтоку жовчі у 33 дітей були пов'язані із внутрішньоутробним гепатитом. При цьому, поряд із проявами вади розвитку у вигляді недостатньої кількості нормально сформованих жовчних протоків, гістологічно закономірно виявляються розростання СТ в порталних трактах, помірна, переважно перипортальна, моноклеарна клітинна інфільтрація при збереженні структури печінкової паренхіми. В окремих клітинах відмічаються значні прояви зернистої і гідропічної дистрофії, аж до некрозу, іноді з утворенням тілець Каунсільмена. Зустрічаються крупні вогнища некрозу. Поряд із цим відмічається проліферація зірчастих ретикулоендотеліоцитів. Це дозволило авторам зробити висновок про суттєву етіологічну роль вірусів гепатиту у походженні цієї вади розвитку. В подальшому дане передбачення було підтверджено М. Г. Индиковою та співав. (1990), які виявили в гепатоцитах при даній патології HBsAg, за допомогою зафарбовування зрізів за методом Шиката [84].

Діагностика внутрішньоутробних інфекцій передбачає ретельне цілеспрямоване гістологічне дослідження усіх внутрішніх органів і головного мозку. В наш час найбільш вивчені морфологічні прояви внутрішньоутробного гепатиту, спричиненого HBV. Д. В. Комарова та В. А. Цинзерлінг (1999) виділяють чотири основних варіанти змін у печінці [84].

Найбільш часто зустрічаються мінімальні чи помірні зміни в печінці, що характеризуються посиленням екстрамедулярного кровотворення, дистрофічними змінами цитоплазми гепатоцитів з помірно виразним ядерним поліморфізмом, іноді з окремими включеннями, незначно виразними запальними змінами стінок печінкових вен.

Гігантоклітинний гепатит, описаний [84, 329], характеризується появою багатоядерних клітин, які за розмірами у декілька разів перевищують звичайний гепатоцит, у вигляді відростчатих симпластичних структур, іноді з двоядерним ланцюжком ядер. Може спостерігатись вогнищевий ядерний поліморфізм з нечітко виразними дрібними світлими включеннями. В їх цитоплазмі, як і в інших менш змінених гепатоцитах, містяться багаточисельні включення, глікоген і дрібні зерна жовчних пігментів. Крім того, спостерігається дисконкомплексація печінкових балок, флебіти печінкових вен, холестази, проліферація холангіол з лімфогістіоцитарною інфільтрацією навколо них. Відмічається і виразна у різному ступені колагенізація стромы. Такого роду зміни, що часто позначаються терміном «гігантоклітинний гепатит новонароджених» [500, 513], за даними [84, 273, 329, 492], може спостерігатися і у дітей більш старшого віку та підлітків. Поодинокі спостереження такого роду дозволяють авторам вважати, що механізм формування гігантських клітин у цих спостереженнях пов'язаний з імунним дефектом (у спостереженні А. В. Цинзерлінга і співав. (1984) – синдромом Брутона). Смерть при гігантоклітинному гепатиті у дітей першого року життя настає від гострої печінкової недостатності (ГПН) [513, 517].

За літературними даними [84], у 7% спостережень внутрішньоутробний гепатиту може нагадувати гострий ВГ дорослих, який перебігає у гострій формі з масивним чи субмасивним некрозом печінки. За матеріалами [84], такі спостереження трапляються дуже рідко, частіше у вигляді секційної знахідки.

Гепатит, що нагадує ХВГ дорослих, з дисконкомплексацією печінкових балок і виразним фіброзом навколо центральних вен і в ділянці портальних трактів у новонароджених в останні роки спостерігається рідко [84]. За морфологічними даними А. В. Жуковець (1971), досить характерним для перебігу ВУВГ є виразний холестаз, що нерідко призводить до подальшого розвитку біліарного цирозу. Провідним патогенетичним чинником

ушкодження гепатоцитів при холестази є накопичення солей жовчних кислот, які активують рецептори смерті і запускають апоптоз [297, 395].

При морфологічному дослідженні біоптатів печінки дітей з ПХВГ С вже в перші місяці життя виявляються ознаки хронічного персистуючого гепатиту, що зберігаються протягом багатьох років, і неодмінно завершуються формуванням ЦП. Відносно рідко у дітей зустрічаються такі типові для ХВГ С ознаки у дорослих, як лімфоїдні фолікули, макровезикулярний стеатоз та ушкодження жовчних капілярів. Слід відмітити, що ранній ЦП розвивався лише у дітей, які були інфіковані перинатально [308].

Морфологічні прояви набутого ВГ при постнатальному інфікуванні, спричиненого HBV та HCV, у дітей дошкільного та шкільного віку істотно не відрізняються від дорослих [84, 472]. Автори відмічають більш часте ураження інших органів, передусім легень, на тлі HBV-інфекції у дітей. Початкові зміни при цьому виникають в ендотелії капілярів, розповсюджуючись на макрофаги, поверхня ядра яких збільшується за рахунок зростання множинних випинань [84].

Крім того, можливе одночасне ураження печінки кількома збудниками одночасно. В умовах імунодефіциту, чи, навпаки, гіперергії та гіперпродукції прозапальних цитокінів відбувається злиття гепатоцитів та проліферація їх ядер у підлітків можливий розвиток і гігантоклітинного гепатиту, що нагадує гігантоклітинний гепатит новонароджених [84, 273].

За даними поодиноких гістологічних досліджень біоптатів печінки у дітей із ХВГ В та ХВГ С [17, 217, 243, 404], активність патологічного процесу у більшості випадків є мінімальною та низькою і, як правило, відповідає результатам клініко-параклінічного дослідження. В усіх хворих з неактивним ХВГ (за біохімічними даними) гістологічно діагностовано мінімальну, або слабо виразну активність, що свідчить про прогресивний патологічний процес у печінці.

На основі біопсійних морфологічних критеріїв, ХВГ В уявляє собою сукупність гістологічних ознак, провідним із яких є запальна інфільтрація лімфоїдними клітинними елементами, що захоплює портальні тракти чи виходить за їх межі, поєднується з реакцією Купферівських клітин і дистрофічним ураженням гепатоцитів різного ступеня в рамках збереженої нормальної архітекτονіки печінки; цитоплазма гепатоцитів має вигляд матового скла з характерними «пісочними» ядрами [126, 219, 228, 234, 253, 372, 404, 452]. Морфологічний варіант ХВГ з ЦП відрізняється своєрідністю гістологічної картини, що полягає у поєднанні помірних запальних і некротичних змін із високою активністю елементів сполучної тканини. У хворих з ХВГ В переважає експресія молодого незрілого колагену III типу, який може піддаватися зворотному розвитку [17].

Морфологія хронічної HCV-інфекції у дітей та дорослих достатньо висвітлена у наукових публікаціях [109, 114, 125, 230, 234, 240, 253, 308, 372, 418, 471, 525]. Вона представлена досить чіткими морфологічними змінами, що є характерними для цього захворювання. До найбільш типових морфологічних критеріїв ХВГ С можна віднести: поєднання жирової та гідропічної дистрофії гепатоцитів, «капіляризація» синусоїдів, наявність тонких міофібрил у просторі Діссе і тонких колагенових фібрил навколо гепатоцитів (періцелюлярний і перипортальний фіброз), ацидофільних тілець Каунсільмена, активація клітин Купфера [466], виразність портального запалення з переважанням в інфільтратах лімфоцитів з формуванням лімфоїдних фолікулів у портальних трактах та всередині часточок, гіперплазія синусоїдальних клітин, скупчення лімфоцитів і макрофагів у синусоїдах, деструкція, проліферація і склероз дуктул. Доволі часто реєструється помірний східчастий некроз, який має вогнищевий характер і локалізується в портальних і перипортальних зонах. Варіанти мостоподібного і зливного некрозу спостерігаються рідко та асоціюються з виразним прогресуванням процесу і поганим прогнозом [234]. Виразна гетерогенність гепатоцитів, аж до їх дисплазії і дисконкомплексації балок, може



розглядатися як основа для розвитку ЦП і ГЦК, які часто є наслідками ХВГ С [114, 240, 308, 372, 418, 471].

Найбільш загальними морфологічними рисами ХВГ С є ураження дрібних жовчних протоків, звуження септальних протоків, що реєструється у 91 % випадків, а також макро- і мікроезизикулярний стеатоз, що сприяє прогресуванню фіброзу [17, 144, 234, 354]. У розвитку стеатозу печінки мають значення: гіперпродукція TNF- $\alpha$ , активація ЗК, оксидативний стрес [456, 478], а також порушення мембранних структур крист у мітохондріях гепатоцитів [399, 478]. У хворих на ХВГ С при прогресуванні фіброзу та формуванні ЦП відбувається зменшення стеатозу [354].

Серед механізмів прогресування ХВГ В переважають запально-некротичні ушкодження паренхіми, тоді як при ХВГ С прогресуючий фіброз переважає над запальними змінами. Від розширення портальних трактів до формування ЦП ступінь фіброзу у печінці безперервно наростає. Не здатний до інтеграції в геном господаря HCV, безперервно реплікуючись, підтримує слабку, але постійну запальну активність, що веде до прогресування фіброзу [240]. За даними літератури, при ХВГ С низького ступеня активності запальний інфільтрат локалізований переважно в портальних трактах, в той час як при ХВГ В більш виразним є лобулярний компонент. Т. Uchida (1995) підкреслює, що відмінності у гістологічних проявах ХВГ В і ХВГ С носять в основному кількісний, а не якісний, характер.

ХВГ С у дітей характеризується більш агресивним колагеноутворенням у порівнянні з ХВГ В, аж до розвитку стадій фіброзу F2–F3 у 40 %, а також виявлений імуногістохімічно у 52 % хворих у просторі Дісе «щільний» малорозчинний колаген I типу. Прогресія фіброзу залежить від тривалості хвороби, навіть при низькій активності процесу. Тому прогноз ХВГ С у осіб, інфікованих у ранньому дитинстві, не може розглядатися як цілковито сприятливий, через розвиток ЦП у подальшому [219, 365, 372]. Розростання сполучної тканини при ЦП супроводжується значним порушенням часточкової структури і судинної структури органу, що по мірі

прогресування захворювання призводить до зниження надходження кисню в гепатоцити [260, 262]. У свою чергу гіпоксія, що супроводжується надлишком активних форм кисню, іонів кальцію і зсувом клітинного рН, чинить помітний вплив на структуру і функцію мітохондріального апарату клітин [319, 390].

У процесі печінкового фіброгенезу провідна роль належить печінковим ЗК Іто, котрі слугують основним джерелом утворення протеїнів ПКМ. У здоровій печінці їх основна функція полягає у накопиченні запасів вітаміну А. Відомо, що фіброз печінки характеризується накопиченням білків ПКМ, що продукуються головним чином активованими ЗК [114, 280, 293, 294, 361, 362, 364, 419, 454, 477, 533]. Процес активації ЗК починається з паракринної стимуляції ліпоцитів клітинами Купфера, ендотелію синусоїдів, гепатоцитами і тромбоцитами, цитокінами, катепсинами В та D [302] і різними факторами росту. Серед них слід відмітити TGF- $\beta$ 1, тромбін, тромбоцитарний і епідермальний фактори росту, TNF. Вони стимулюють проліферацію ЗК, а головне – продукцію компонентів ПКМ, передусім, колагену I типу [114, 223, 280, 299, 368, 466]. ЗК експресують CXCR4 рецептор, який активується stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  (SDF1 $\alpha$ ), що має профібротичну дію через активацію ЗК, фіброгенез та їх проліферацію. SDF1 $\alpha$ -індукований ефект проявляється продукцією колагену I типу та проліферацію ЗК. Доведено [398] підвищення експресії CXCR4-рецептору на ЗК у хворих із HCV-ЦП. Встановлено [470], що активовані ЗК – міофібробласти стійкі до більшості проапоптичних стимулів внаслідок надмірної експресії Bcl-2, що може відігравати важливу роль у прогресуванні фіброзу.

Відомо, що при холестази у дітей для активації ЗК та фіброгенезу має значення monocyte chemotaxis protein-1, який виробляється гепатоцитами у відповідь на дію жовчних кислот, що веде до холестатичного ушкодження печінки і раннього ЦП [367].

Дія феритину, який депонується у печінці при ХВГ, прирівнюється до такої у прозапальних медіаторів, що має важливе значення в активації ЗК та фіброгенезі [246].

Інший важливий фактор печінкового фіброгенезу – руйнування протеїнів ПМК тканинними металопротеїнами. Останні синтезуються в основному клітинами Купфера і самими ж активованими клітинами Іто. Баланс між синтезом і руйнуванням компонентів ПМК досягається лише у гострих ситуаціях, що включають фульмінантну печінкову недостатність. При ХВГ, у разі повторних ушкоджень печінки, синтез ПМК значно переважає над його руйнуванням, що веде до фіброзу, а при тривалому існуванні – до ЦП [114].

Лише при ХВГ С у дітей виявлені склеротичні зміни в центральній та портальних венах. Свідченням більш активного колагеноутворення при ХВГ С є вірогідно більш висока частота і ступінь виразності активації синусоїдальних клітин та «капіляризації» синусоїдів порівняно з ХВГ В. Найбільш виразні морфологічні зміни у печінці спостерігаються при ХВГ В та ХВГ С у дітей шкільного віку [345, 471].

У патогенезі ВГ поряд з некрозом гепатоцитів важливу роль відіграє і їх апоптоз [10, 106, 228, 277, 289, 477, 483]. Термін «апоптоз» був введений у медичну термінологію [316], як тип клітинної смерті зі специфічними морфологічними ознаками (округлення ядра, каріопікноз, каріорексис, незначна модифікація клітинних органел, округлення цитоплазматичної мембрани, ретракція псевдоподій, поглинання резидентними фагоцитами (*in vivo*) [316, 375]. За рекомендацією Номенклатурного комітету по клітинній смерті, апоптоз не є синонімом запрограмованої смерті клітин [316], оскільки загибель клітини протягом фізіологічного розвитку може маніфестувати без апоптичних особливостей. Виділяють два основних механізми, що відповідають за активацію процесу загибелі клітин: внутрішній шлях, що реалізується через мітохондрії і запускається специфічними внутрішньоклітинними стимулами (ушкодження ДНК, підвищення

концентрації внутрішньоклітинного кальцію, тощо), і зовнішній шлях, пов'язаний з активацією рецепторів смерті Fas(Apo-1/CD95), TRAIL- R1 та R2, TNF-R1, розташованих на поверхні клітинних мембран [228, 337, 401, 445]. Обидва ці шляхи нерідко тісно пов'язані [46]. Зокрема, активація рецепторів смерті може призводити як до апоптозу, так і до некрозу клітини [337]. Ацидофільні тільця Каунсільмена, які характеризують заключну стадію апоптозного каскаду, визначені у 56,0 % дітей з ХВГ С та 33,0 % – з ХВГ В на тлі невиразних запальних змін у печінці [17, 106, 234].

Фрагментація ДНК ядер, яку можна виміряти методом проточної цитометрії (МПЦ), є найважливішою складовою апоптозу [127]. За допомогою МПЦ встановлено [46], що при експериментальній механічній жовтяниці гепатоцити гинуть переважно шляхом апоптозу.

В патологічних умовах, де клітини отримують різні за силою і тривалістю впливи багатьох патогенних агентів, виділити якийсь один із варіантів клітинної смерті, як єдиний, не представляється можливим. Можна говорити лише про переважний характер ураження [46], тому використовуються терміни «некроапоптоз» [435] та «апонекроз» [17]. За допомогою імуногістохімічного дослідження встановлено, що основним шляхом загибелі гепатоцитів при ХВГ В та ХВГ С є апоптоз та апонекроз спричинений  $TNF\alpha$  [17, 106, 289, 344, 371, 401, 402]. Тоді як апоптоз печінкових клітин є важливою ланкою патогенезу кінцевих стадій хвороб печінки і фіброгенезу [289, 371, 451].

За даними літератури [217, 404], морфологічна картина ХВГ В+С у дітей якісно більше нагадує таку при ХВГ С. Чітко проявляються усі компоненти тріади ознак: деструкція епітелію жовчних протоків, формування лімфоїдних фолікулів і/або агрегатів, а також дрібно- чи крупнокрапельна жирова дистрофія гепатоцитів, що є характерними для ХВГ С. Значно більше ніж при ХВГ В і ХВГ С, був виразний лобулярний компонент запалення, який також вважається характерним для ХВГ С [404].

П. Н. Філімонов та співав. (2001) виявили виразний фіброз у значної кількості дітей, особливо при ХВГ В+С, при якому швидкість фіброзування печінки виявлялась значно вищою, ніж при ХВГ В і ХВГ С. Отримані авторами результати свідчать про те, що набутий в дитячому, особливо ранньому, віці ХВГ В+С переважає за активністю запалення і фіброзування печінки ХВГ В і ХВГ С, прогресує і може призводити до формування ЦП в молодому віці у значної частини хворих [217].

З'ясування інформації щодо патологічних змін при захворюваннях печінки у дітей є важливим для уточнення їх патогенезу та планування адекватної терапії.

Отже, стан патологічного процесу в печінці при ХВГ В та С, за даними морфологічного дослідження, у дітей детально не вивчений. Дані біопсійного дослідження печінки у дітей нечисленні, без урахування вікових особливостей дитячого організму. Дані за печінкові та позапечінкові прояви при летальних випадках при даній патології у дітей на сьогоднішній день практично відсутні. Водночас глибоке пізнання механізмів розвитку і прогресування ХВГ у дітей неможливе без розуміння структурного підґрунтя формування даної патології, що обґрунтовує необхідність проведення даних досліджень.

#### **1.4. Сучасні підходи до патогенетичного лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей**

Проблема лікування ХВГ у дітей залишається актуальною і сьогодні. При лікуванні даної патології, на думку клініцистів, крім усунення дії етіологічного чинника, важливим залишається підтримання функцій печінки на оптимальному рівні [12, 150, 231, 248, 369, 490].

Відповідно до Наказу МОЗ України «Про затвердження Протоколів лікування дітей за спеціальністю «Дитяча гастроентерологія» (№471 від 10

вересня 2007 року) фармакотерапія ХВГ В і С у дітей передбачає етіологічне, патогенетичне та симптоматичне лікування [129].

Загальноприйнято вважати, що на сьогоднішній день препаратом вибору при етіологічному лікуванні ХВГ є ІФН- $\alpha$  та ряд нуклеозидних аналогів, що здатні пригнічувати реплікацію гепатотропних вірусів, зменшувати фіброз [309, 318, 323, 463, 469, 498, 528]. Перевага віддається рекомбінантним формам ІФН- $\alpha$  [60, 76, 91, 227, 285, 318, 346, 449, 505]. Проте є ряд протипоказань до призначення ІФН- $\alpha$  при ХВГ, зокрема, наявність ознак декомпенсованого ЦП, нервово-психічних захворювань, судом, черепно-мозкових травм у теперішній час чи в анамнезі, виразна лейкопенія, нейтропенія, тромбоцитопенія, СНІД, ЦП класу С за Child-Pugh, а також ряд відносних [91, 321, 509].

Збереження високої реплікації вірусу після 3-місячного курсу комбінованої вірусної терапії ( $>10^3$  копій геному/мл) свідчить про її неефективність. Лікування в такому випадку слід припинити [110, 318, 389, 416].

Результати етіологічного лікування даної патології не можна вважати задовільними, оскільки стійкої біохімічної і вірусологічної відповіді на лікування ІФН- $\alpha$  вдається досягти у 30–40 % хворих на ХВГ В і 25–30 % – ХВГ С [60, 91, 146, 147, 227, 267].

У цьому відношенні, на думку багатьох авторів [95, 97, 192] вдалою альтернативою рекомбінантного ІФН- $\alpha$  є індуктори ендogenous інтерферону. До сьогоднішнього часу з індукторів ІФН в дитячій практиці добре вивчено застосування циклоферону. З метою оптимізації лікування ХВГ В і/або С у дітей у ФР рекомендують комбінацію індуктора ендogenous інтерферону – «Амізону» з гепатопротектором «Антраль». Ця схема ґрунтується на принципі індукції синтезу інтерферонів усіма видами продуцентів (Т-лімфоцити, фібробласти, клітини лейкоцитарного ряду), а також здатності антралю інгібувати *in vitro* реплікацію вірусу гепатиту В [192].

Антраль («Антраль» ВАТ «Фармак») – гепатопротектор, розроблений на основі координаційного сполучення алюмінію з амінокарбоною кислотою [149, 245]. Він володіє протизапальною, знеболюючою, жарознижуючою, імуномодельючою, мембраностабілізуючою, антиоксидантною, детоксикаційною та противірусною активністю щодо вірусів гепатиту А, В та Е. При курсовому застосуванні препарат нормалізує вміст білірубіну,  $\gamma$ -глобулінів, холестерину в крові, протромбіновий індекс, активність трансаміназ та ЛФ [149, 226, 245, 248]. За результатами доклінічних досліджень встановлено, що антраль в умовах гострого, підгострого та хронічного ураження печінки різними ксенобіотиками сприяє ослабленню наслідків дії гепатотоксинів, активізації репаративних процесів у гепатоцитах та практичній нормалізації показників, що відображають структурно-функціональний стан печінки у дорослих та статевонезрілих тварин. Препарат інгібує процеси ПОЛ у крові та тканинах, підтримує активність антиоксидантних систем організму, стабілізує структури печінки та мембрани гепатоцитів. У нього відсутні кумулятивні властивості, імунотоксична, місцевоподразнююча, алергенна, ульцерогенна, ембріотоксична і тератогенна дії [83, 149, 226, 244].

Антраль підвищує кількість CD4-лімфоцитів, при їх вихідному зниженому рівні, зменшує рівень ЦК, у тому числі їх найбільш токсичної середньомолекулярної фракції (11S-19S), зростання фагоцитарної активності нейтрофілів і макрофагів [244, 245]. Одночасно спостерігається позитивний вплив антралю на показники енергетичного метаболізму, що проявлялось підвищенням рівня АТФ у плазмі крові та еритроцитах, зростанням енергетичного заряду клітин, зниженням вихідного підвищеного вмісту пірувату і лактату у крові в поєднанні з покращенням мікрогемодинаміки. Препарат забезпечує зниження рівня «середніх молекул» і, зокрема, пептидів середньо молекулярної маси, тим самим призводячи до зменшення вираженості ендogenous токсикозу. Відмічений також позитивний вплив антралю на стан енергетичного метаболізму, зниження у хворих, які

отримували препарат вихідного підвищеного рівня циклічних нуклеотидів з тенденцією до нормалізації коефіцієнту цАМФ/цГМФ [244, 245]. В патогенетичному плані встановлено, що застосування антралю протягом 10 днів сприяє підвищенню рівня інтерферону в сироватці крові в середньому у 3,5-4,6 рази. Виявлена інтерферогенна дія препарату пояснює його профілактичну дію у вогнищах ВГ [244, 245]. Препарат дозволений для застосування при хронічних гепатитах та цирозу печінки у дітей віком від 4 років [83, 191, 149, 226, 244, 248].

Поряд із синтетичними, в практичній медицині почали використовуватись рослинні препарати з порівняно низькою токсичністю та вибірково-специфічною фармакологічною дією, зокрема «Протефлазид». Механізм противірусної дії препарату обумовлений явищем інгібіції ДНК-полімеразної активності вірус-індукованих клітин, а також індукцією ендогенного ІФН ( $\alpha$  і  $\gamma$ ). Застосування протефлазиду підвищує ефективність базисного лікування ХВГ та збільшує вірогідність досягнення стабільної ремісії [95].

Своєрідною «альтернативою» стандартної противірусної терапії ХВГ може слугувати застосування синтетичного препарату «Біциклол», діючою речовиною якого є шизадрин С, отриманий з Лимонника китайського. Препарат показаний особливо у тих випадках, коли інтерферонотерапія неможлива чи неефективна. Клінічними дослідженнями доведено, що препарат є ефективним та безпечним у лікуванні ХВГ В і ХВГ С, особливо в аспекті нормалізації рівнів АЛТ, АСТ і зменшення запальної активності в паренхімі печінки. Біциклол стимулює клітинну імунну відповідь за Th-1 типом і, відповідно, гальмує Th-2 опосередковану клітинну відповідь. Одним із фундаментальних механізмів дії біциклолу є його здатність пригнічувати продукцію TNF $\alpha$  нейтрофілами, клітинами Купфера та макрофагами, попереджувати апоптоз гепатоцитів, стимульований цитотоксичними Т-лімфоцитами і TNF $\alpha$ , що веде до гальмування фіброгенезу. «Біциклол» виводить з клітин вільні радикали і гальмує ПОЛ, володіє



мембраностабілізуючою дією у відношенні до мітохондріальної мембрани та мембрани гепатоцита; покращує білоксинтезуючу та детоксикаційну функцію печінки, а також процеси регенерації гепатоцитів. В експериментальних моделях доведена його дія щодо індукції апоптозу HepG2 клітин (культура клітин гепатоцелюлярної карциноми), гальмує екскрецію HBsAg і HBeAg в клітинній лінії HepG2 і реплікацію DNA HBV. При дослідженнях *in vitro* та *in vivo* встановлено, що біциклол володіє помірною противірусною активністю відносно вірусів гепатитів В і С, при цьому препарат здатний зупиняти продукцію HBsAg, HBeAg, ДНК HBV і РНК HCV, зменшуючи вірусне навантаження у вигляді зниження вмісту ДНК HBV і РНК HCV [29, 77, 278, 519, 543]. Таким чином, біциклол володіє гепатопротекторною, антиапоптичною, антиоксидантною, цитопротекторною, протифібротичною, імуномодельюючою та опосередкованою противірусною дією.

В Україні достатньо широко біциклол застосовується у дорослих з ХВГ [29, 77, 222], рідко – у дітей при ХВГ В і С [92]. Можливо, це пов'язано із віковими обмеженнями, оскільки даний препарат може призначатися лише дітям після 12 років [92].

Патогенетична терапія ХВГ включає препарати, що, з одного боку, пригнічують прогресування патологічного процесу, а з іншого – коригують порушені функції печінки [50, 91, 107, 139, 167]. Основне місце серед засобів патогенетичної терапії посідають гепатопротектори. За даними фармакомаркетингових досліджень, ця група препаратів у світі представлена 293 торговими марками. Препарати гепатопротекторної дії одні з найбільш призначуваних класів фармакологічних препаратів в Україні [53, 105, 139]. За походженням гепатопротектори класифікують на рослинні (сілібінін та інші моно- і полікомпонентні препарати на основі розторопші плямистої, вільхи, артишоку польового, тощо), тваринні (сірепар, вітогепат, вігератин, ербісол), препарати, що містять жовчні кислоти (урсодезоксихолієва кислота – УДХК), амінокислоти та есенціальні

фосфоліпиди (ЕФ) (адеметіонін, орнітин, аргініну цитрат та глутамат, есенціале, енерлів, ліволін, ліолів, гепастерил А і В), синтетичні (антраль, тіотріазолін, катерген, бетаїну цитрат), гомеопатичні (галстена, гепар композітум, хепель) [50, 54].

Патогенетична терапія у дітей, на відміну від дорослих, має певні особливості, а саме : обмеження чи неможливість застосування деяких препаратів через «віковий ценз».

Біля 85 % всіх гепатопротекторів на українському ринку припадає на препарати, створені на основі ЕФ, клінічна ефективність яких підтверджена багаторічними дослідженнями [41, 53, 85, 216, 490]. Механізм гепатопротекторної дії ЕФ в першу чергу пов'язаний із мембраностабілізуючим ефектом, що пов'язаний із покращенням іонного транспорту, процесів внутрішньоклітинного дихання та біологічного окислення. Вони впливають на зв'язування ферментів внутрішньоклітинного дихання в мітохондріях, а також на процес окисного фосфорилування в енергетичному обміні клітин. ЕФ сприяють регенерації клітинних мембран, реактивують порушені мембранозв'язані ферментні системи і рецептори, підвищують детоксикаційну та білоксинтезуючу функцію печінки [43, 83]. Надзвичайно важливим ефектом ЕФ є гальмування прогресування фіброзу печінки за рахунок стимуляції активності колагеназ, а також пригнічення продукції колагену активованими зірчастими клітинами та синтезу тканинного інгібітора металопротеїназ I типу, індукованих TGF $\beta$ -1, пригніченням активації і проліферації ЗК печінки, опосередкованої фактором активації тромбоцитів, зменшенням оксидативного стресу [41, 43, 65, 152]. Антифібротична дія ЕФ доведена як в експерименті, так і в клінічних дослідженнях [43, 85, 264, 490]. В експериментах на тваринах було показано, що есенціале позитивно впливає на маркери холестазу і попереджує розвиток холестазу, індукованого циклоспорином А [113], вірогідно знижує відсоток клітин, що підлягають апоптозу, знижує рівень запальної активації

клітин Купфера і продукції ними прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$  та TNF- $\alpha$  [264, 466].

Під дією ЕФ у хворих на ЦП знижується рівень TNF- $\alpha$  у сироватці крові, що свідчить про регулювання клітинної диференціації і, можливо, про зниження ризику розвитку ГЦК [85, 264]. ЕФ ефективні при вірусному ураженні печінки для репарації клітинних і субклітинних мембран, оскільки при реплікації вірусу відбувається втрата частини цитоплазматичної мембрани. ЕФ підвищують ефективність інтерферонотерапії [490]. С.Н. Сорінсон (1998) для попередження інфікування плода рекомендує призначати ЕФ вагітним, інфікованих вірусом гепатиту В, у II половину вагітності [213].

Одним із найпопулярніших класів гепатопротекторів є препарати рослинного походження [50, 54, 105, 150, 216, 249, 370, 379]. Інтерес до них обумовлений тим, що фітогепатопротектори мають полікомпонентний склад біологічно активних речовин, а це, у свою чергу, дозволяє впливати одномоментно на декілька ланок патогенетичного ланцюга. Крім цього, вони мають «м'яку» дію та вигідно відрізняються фармакоеконічними характеристиками. Серед них найбільш вивченими, ефективними і перспективними, за даними багатьох дослідників, вважаються препарати на основі розторопші плямистої (*Silibum marianum*), зокрема «Дарсіл». Розторопша плямиста відноситься до числа найбільш популярних лікарських рослин, що застосовуються у світі при хронічних захворюваннях печінки. Лікувальні властивості обумовлені основним компонентом сілімарином, що представляє суміш трьох ізомерних сполук – сілібініну, сілікрістіну і сілідіаніну, найбільшою гепатопротектором дією з яких володіє сілібінін [35, 67].

Сілімарин виявляє виразну гепатопротекторну дію при вірусному гепатиті, ушкодженнях печінки, механічній жовтяниці, хоча повного відновлення функціональної активності мітохондріальних і мікросомальних ферментних систем гепатоцитів не відбувається. Основний механізм

гепатопротекторної дії сілімарину обумовлений антиоксидантною і мембраностабілізуючою дією [54, 216, 249, 506].

Завдяки фенольній структурі біологічні компоненти сілімарину зв'язують вільні радикали в печінці, перешкоджають руйнуванню клітинних структур, значно зменшують активність ПОЛ у мембранах гепатоцитів, чим сприяють їх зміцненню та попереджають їх руйнуванню. При цьому сілібінін гальмує як утворення малонового діальдегіду (МДА), так і підвищене поглинання кисню. Сілімарин сприяє значному підвищенню вмісту відновленого глутатіону в печінці, тим самим підвищуючи захист печінки від оксидативного стресу, підтримуючи її детоксикаційну функцію. Таким чином, завдяки антиоксидантним властивостям сілібінін проявляє мембраностабілізуючу, протизапальну і антитоксичну активність [16, 35, 54].

Покращуючи функцію мембран і перебіг метаболічних процесів в ушкодженій паренхімі печінки, сілібінін перешкоджає розвитку гідропічної та жирової дистрофії печінки, некрозів, стимулює синтез альбумінів і факторів згортання крові [54, 83].

Препарати на основі сілімарину специфічно стимулюють РНК-полімеразу А в клітинному ядрі та активізують синтез структурних і функціональних білків і фосфоліпідів в ушкоджених гепатоцитах, що веде до стабілізації клітинних мембран та зменшенню їх проникності ; запобігають виходу трансаміназ і прискорюють регенерацію гепатоцитів ; гальмують проникнення в гепатоцити деяких отрут. При цьому сілібінін не впливає на швидкість реплікації і транскрипції ДНК в малігнізованих клітинах, що виключає можливість їх проліферації при пухлинних процесах [54, 67, 83]. Сприяють нормалізації біохімічних показників функціонального стану печінки (активність трансаміназ, ГГТП, ЛФ, рівня білірубіну) [139, 506].

Протягом останніх років виявлені антифіброзні властивості препарату [41, 506, 521], які пов'язані з цитопротекторними та антиоксидантними властивостями та відкрило нові перспективи у лікуванні та профілактиці захворювань печінки. Вважають, що при цирозі печінки під впливом

сілібініну сповільнюється фіброзування органу за рахунок впливу на TGF- $\beta$  та експресію генів матриксу на ЗК [66, 493]. Між тим контрольованих клінічних досліджень, які відповідають стандартам доказової медицини, з цього приводу не проводилось [67].

Встановлено, що у пацієнтів з гепатитом С, які приймали препарати розторопші, відмічається зменшення виразності симптомів захворювання і деяке покращення якості життя, хоча на біохімічні параметри і на показники вірусного навантаження застосування цих ліків ніяк не впливало [379]. Препарати сілімарину можна призначати дітям різного віку тривалістю 1-3 місяці [105].

Інший широкоживаний рослинний препарат «Артишока екстракт – Здоров'я» створений на основі екстракту свіжої трави артишоку польового. Основною діючою речовиною є фенольна сполука цинарін у поєднанні з фенокислотами, біофлавоноїдами та іншими речовинами, виявляє жовчогінну та гепатопротекторну дію, сприяє виведенню із організму токсинів, нормалізації обмінних процесів [83, 216].

Комбіновані рослинні препарати, що вміщують екстракти розторопші плямистої, дим'янки плямистої, чистотілу, фумарин, тощо, найбільш показані дітям із супутньою патологією біліарної системи, враховуючи, що екстракти лікарських трав, які входять до складу даних препаратів, виявляють жовчогінну, холеспазмолітичну та детоксикаційну дію, нормалізують тонус сфінктера Одді [50, 216].

Тактика лікування дітей з холестатичним варіантом ХВГ передбачає застосування препаратів, що містять жовчні кислоти (УДХК) та амінокислоти (аргініну цитрат та глутамат) [20, 50, 402, 406, 428, 473, 479]. Препаратом вибору сучасної патогенетичної терапії у даного контингенту хворих є УДХК, яка є синтетичним стереоізомером хеноксихолієвої кислоти та володіє мембраностабілізуючою та гепатопротекторною дією (зменшення токсичного ушкодження гепатоцитів і епітелію жовчних проток, що виражається у зниженні активності АЛТ та ЛФ). УДХК володіє виразним

гіпохолестеринемічним ефектом, за рахунок стимуляції при холестази екзоцитозу в гепатоцитах шляхом активації Са-залежної- $\alpha$ -протеїнкінази, а також знижує концентрацію токсичних для гепатоцитів жовчних кислот; гальмує всмоктування ліпофільних жовчних кислот у кишках, збільшує пасаж жовчі і стимулює виведення токсичних жовчних кислот. УДХК заміщує неполярні жовчні кислоти і формує нетоксичні змішані міцели, знижує синтез холестерину в печінці, а також його всмоктування в кишках, зменшує літогенність жовчі [196, 349, 392, 405, 479, 526, 537]. Це особливо важливо при ХВГ С, оскільки відомо, що жирова інфільтрація печінки – одна із важливих ланок патогенезу саме цієї інфекції, особливо при інфікуванні генотипом 3а, при якому до 95 % розвивається стеатоз; по-друге, ожиріння і стеатоз вдвічі знижують ефективність ІФН-терапії.

Апоптоз при холестази пов'язують з дією жовчних кислот, що накопичуються в гепатоцитах [433]. Антиапоптичні ефекти УДХК пов'язані зі зниженням проникності мітохондріальної мембрани та зменшенням вивільненням мітохондріального цитохрому С [433]. Завдяки активації рецепторів епідермального фактору росту (epidermal growth factor receptor) і мітогенактивованих протеїнкіназ (mitogen-activated proteinkinases/МАРК) викликає в гепатоцитах сигнали, спрямовані на виживання клітини, обумовлюючи таким чином антиапоптичний ефект [484]. УДХК на різних рівнях блокує патологічний каскад медіаторів, які запускають апоптоз, ліквідує чи частково нейтралізує цей найважливіший механізм прогресування ХВГ В та С і сприяє зменшенню фіброзу [41, 493, 527], що є однією з головних ланок лікування даної патології, у тому числі противірусного [484], а також пригнічує гепатоканцерогенез [495]. При інтеграції в клітинну мембрану УДХК сприяє стабілізації і захисту поверхні мембрани гепатоцитів, нормалізації імунологічних властивостей їх мембран. Експериментально доведено, що тривале застосування УДХК призводить до зменшення експресії на поверхні гепатоцитів HLA-1 класу і на холангіоцитах HLA-2 класу, зменшуючи тим самим ступінь аутоімунності [396, 537].

У фазі інтеграції (ФІ) УДХК можна призначати у вигляді монотерапії, у фазу реплікації (ФР) вірусу – у поєднанні з ІФН [50, 76, 167]. За даними [4, 7, 76], комбінована терапія ХВГ В та С препаратами ІФН- $\alpha$  з УДХК є більш ефективною, порівняно з монотерапією. На думку [79], препарати на основі УДХК у високих дозах модуть бути альтернативою противірусної терапії ХВГ В і С, у випадку неможливості застосування ІФН. За даними літератури [396], УДХК пригнічує дію ІЛ-4, змінюючи співвідношення вмісту Th 1 та 2 типів на користь першого. Урсохол можна призначати дітям навіть в періоді новонародженості в дозі 10-15 мг/кг/добу [7, 18, 50, 76, 107, 167], а також вагітним жінкам із внутрішньопечінковим холестазом [405, 422], що доводить його безпечність.

Позитивний вплив на функцію печінки у дітей старших вікових груп виявляє перспективний амінокислотний препарат «Глутаргін» – комбінації глютамінової кислоти та аргініну, які відіграють важливу роль у забезпеченні біохімічних процесів нейтралізації та виведення із організму азотистих речовин. Завдяки цьому препарат знижує загальнотоксичні, у тому числі нейротоксичні, ефекти аміаку. Також препарат володіє антиоксидантною, антигіпоксичною, мембраностабілізуючою активністю, позитивно впливає на процеси енергозабезпечення в гепатоцитах [17, 18, 83, 107].

З метою медикаментозної корекції склеротичних процесів у печінці та їх профілактики у дітей з ХВГ у фазі реплікації вірусу, яким противірусна терапія з різних причин не може бути призначена (діти до 2 років, висока вартість лікування, побічні реакції, неефективність ІФН), О. М. Лук'янова та співав. (2006) пропонують комплексне застосування УДХК, глутаргіну та гепабене дітям, віком від 5 років. Ця схема сприяє зменшенню клінічних симптомів захворювання, цитолізу і проявів МЗС. Дане лікування не впливає на реплікацію вірусу, проте є патогенетично обґрунтованим і після трьохмісячного курсу сприяє підвищенню синтезу оксиду азоту та гальмуванню колагеноутворення [107]. Донатори оксиду азоту показані для

активації NO-залежного апоптозу ЗК з метою лікування портальної гіпертензії [458].

При лікуванні дітей із жировою інфільтрацією печінки та порушенням обміну ліпідів також рекомендується призначати багатокomпонентні гепатопротектори гомеопатичного походження. Так комплексний гомеопатичний препарат «Галстена» сприяє регенерації гепатоцитів, зменшує виразність синдрому цитолізу і внутрішньопечінкового холестазу, нормалізує тонус і моторику жовчних шляхів, чинить спазмолітичну і протизапальну дію на органи гепатобіліарної системи, знижує внутрішньопротокову гіпертензію підшлункової залози. «Галстена» нормалізує колоїдний стан жовчі, що проявляється в підвищенні екскреції жовчних кислот і лецитину, таким чином ліквідовуючи холестази; нормалізує вміст тригліцеридів у сироватці крові, знижує рівень тригліцеридів та  $\beta$ -ліпопротеїнів. Гомеопатичні гепатопротектори можна призначати новонародженим та дітям молодшого віку [50, 83].

Останнім часом в Україні широкого застосування набули гепатопротектори синтетичного походження, зокрема «Антраль» та «Тіотриазолін» [52, 53, 192]. Ці препарати вітчизняного виробництва поєднують в собі мембраностабілізуючі, антиоксидантні, детоксикаційні та імунотропні властивості, тому впливають на різні ланки ушкодження тканини печінки. Перевагою даних препаратів є можливість їх застосування у дітей, починаючи з 4-5-річного віку [53, 83].

«Тіотриазолін» – гепатопротекторний засіб із групи тіазолу (морфолінова сіль 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти). Він володіє антиоксидантною, мембраностабілізуючою, імуномодулюючою, протиішемічною та анаболічною дією. Попереджує ушкодження та руйнування гепатоцитів, знижує ступінь жирової інфільтрації та розповсюдженість централобулярних некрозів печінки, активує процеси репаративної регенерації гепатоцитів, нормалізує в них білковий, ліпідний, вуглеводний та пігментний обмін. Прискорює синтез та виділення жовчі,



нормалізує її хімічний склад. Підвищує компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, активує процеси окислення в циклі Кребса із збереженням внутрішньоклітинних резервів АТФ. Препарат активує антиоксидантну систему і гальмує процеси окислення ліпідів, покращує реологічні властивості крові за рахунок активації фібринолітичної системи [51, 83]. Доведена ефективність застосування тіотриазоліну для лікування дітей, хворих на гострі та хронічні вірусні гепатити А та В [86, 248].

На думку [126] оптимальний гепатопротектор при ХВГ має володіти мембраностабілізуючими та антиоксидантними властивостями, оскільки в патогенезі даної патології провідна роль в ушкодженні гепатоцитів належить активації ПОЛ.

При відсутності показань до противірусної терапії, попередження і лікування печінкової недостатності є головною проблемою. У вирішенні цієї проблеми обговорюються два можливі варіанти: трансплантація печінки та стимуляція відновних процесів в ураженому органі [157, 221, 233, 369, 510].

Необхідно відмітити, що основні відомі механізми дії та фармакологічні ефекти гепатопротекторів, а це : антиоксидантна дія, мембраностабілізуюча, детоксикаційна, протизапальна вивчені переважно біохімічними та морфологічними методами як у доклінічних, так і клінічних дослідженнях. Вплив засобів патогенетичної терапії, зокрема гепатопротекторів, на клітинні механізми репаративного відновлення печінки на сьогоднішній день не досліджений.

Репаративна регенерація патологічно зміненої печінки може відбуватися як шляхом збільшення об'єму функціонуючої паренхіми, так і шляхом резорбції надлишку утвореного колагену, і спрямована в першу чергу на нормалізацію стромально-паренхіматозних взаємовідносин. Недостатність репаративної регенерації може слугувати передумовою хронізації патологічного процесу в органі [32, 221, 229, 430, 510]. Таким чином, актуальним питанням є стимуляція репаративної активності патологічно зміненої печінки і дослідження її клітинних механізмів [12, 202].

Відомо, що основним шляхом загибелі гепатоцитів при гострих та хронічних ВГ у дітей та дорослих є апоптоз [17, 277, 289, 344, 375, 401, 402, 445]. Тому патогенетична терапія ХВГ має бути спрямована на зменшення патогенно індукованого апоптозу [229, 277]. Крім того, для запобігання прогресування захворювання до стадії декомпенсованого ЦП у дітей, які були інфіковані перинатально, лікування слід проводити на ранніх стадіях захворювання [145, 440, 498].

Нормальний і репаративний ріст будь-якого органу, як відомо, може здійснюватися за рахунок трьох клітинних механізмів: збільшення кількості клітин (проліферація), збільшення числа геномів у клітинах (поліплоїдизація) та за рахунок росту цитоплазми клітин, не пов'язаного з їх проліферацією та поліплоїдизацією (гіпертрофія) [229, 300, 383, 431]. Між тим різні препарати можуть мати індивідуальні відмінності у впливі на активність проліферативних, поліплоїдизаційних та гіпертрофічних процесів у печінці, що може відобразитись на ступені відновлення патологічно зміненого органу та прогнозі захворювання.

Загальновідомо, що проблема адекватної медикаментозної корекції ХВГ та ЦП у дітей потребує удосконалення, у тому числі шляхом вивчення ефективності різноманітних фармакологічних препаратів у порівняльному аспекті на відповідних експериментальних моделях.

Класичною моделлю для відтворення типових патологічних процесів у печінці вважається токсичний гепатит, спричинений  $CCl_4$  [115, 262, 302, 325, 370, 454, 507]. Введенням  $CCl_4$  й етанолу можна порівняно легко і швидко викликати білкову та жирову дистрофію печінки, розлади кровообігу, порушення екскреції жовчі, тоді як фіброзування органу, особливо за типом цирозу, відбуваються лише при певних умовах досліду та тривалого експерименту [115, 325, 326, 390, 454].

У більшості випадків експериментальний ЦП моделюється на білих статевозрілих щурах, шляхом ізольованого введення  $CCl_4$  протягом тривалого часу – від 2 до 13 місяців [42, 284, 325, 326, 370], або у поєднанні з

етанолом [13, 63, 115]. Із морфологічних знахідок слід відмітити формування порталного ЦП при комбінованому введенні етанолу та  $CCl_4$ , за рахунок збільшення вмісту ацетальдегіду і лактату, які можуть стимулювати синтез колагену фібробластами, що, у свою чергу, веде до накопичення СТ у печінці і розвитку цирозу [63, 262, 390], тоді ж як ізольоване введення  $CCl_4$  призводить частіше до постнекротичного ЦП [115, 454].

Проточна цитометрія – високоінформативний метод для визначення і оцінки загибелі гепатоцитів при патології печінки [46, 453, 465, 532]. За допомогою МПЦ набагато раніше, ніж гістологічно, можна побачити зміни, що свідчать про ушкодження печінки, зокрема анеуплоїдію, яка може передувати злоякісним змінам [338, 431].

Поліплоїдні клітини містять велику кількість ДНК у порівнянні з диплоїдними клітинами, завдяки синтезу ДНК без подальшого поділу клітини [300, 383, 393]. Поліплоїдія печінкових клітин з'являється у пізньому фетальному та ранньому постнатальному періодах [482]. Феномен поліплоїдії зустрічається як в рослин, нижчих форм живих організмів, так і у клітинах різних органів дорослих тварин і людини [374]. Виразна поліплоїдія клітин ссавців поєднується з кінцевою диференціацією та старінням клітини [300].

За допомогою МПЦ встановлено [22, 78, 296, 522], що клітини паренхіми печінки у більшості дорослих, тобто статевозрілих тварин (мишей, щурів) є поліплоїдні, які при нормальних умовах не діляться або знаходяться у стані дуже низької проліферативної активності. Тоді як у новонароджених щурів паренхіма печінки містить переважно диплоїдні клітини (з набором ДНК  $2c$ ), які інтенсивно діляться. Двохядерні гепатоцити утворюються внаслідок ацитокінетичних мітозів і з'являються через декілька днів після народження, їх кількість значно збільшується через декілька тижнів. Поліплоїдизація паренхіми печінки відбувається шляхом чередування ацитокінетичних та поліплоїдизуючих реституційних мітозів за схемою :  $2c \rightarrow 2c \times 2 \rightarrow 4c \times 2 \rightarrow 8c$  і т.д. Деталі цього процесу можуть відрізнитися у

різних видів ссавців, але його вихідною точкою є пул одноядерних диплоїдних гепатоцитів. Тому, незважаючи на те, що чимало авторів справедливо вважає присутність двоядерних клітин у печінці показником її регенерації, саме пул одноядерних диплоїдних гепатоцитів значною мірою визначає регенераційний потенціал цього органу [202, 532]. Але регуляція плоїдності ДНК та її біологічне значення на сьогоднішній день є недостатньо зрозумілими питаннями [374].

З приводу значення поліплоїдії на сьогоднішній день існують різні думки. Деякі автори [22, 300, 383, 511] розглядають поліплоїдію як механізм еволюційного пристосування на дію різних ушкоджуючих чинників зовнішнього і внутрішнього середовища, що відображає високий ступінь незворотної печінковоклітинної диференціації, яка знижує ризик геномних ушкоджень. Інші [482] констатують, що збільшення плоїдності корелює з накопиченням в клітинах продуктів ПОЛ, підвищенням експресії  $\beta$ -галактозидази і гену p21, а також збільшенням вірогідності вступання клітин в апоптоз. Існує думка, що поліплоїдизація гепатоцитів за дії ушкоджуючих факторів, наприклад, введення тваринам етанолу має розглядатися як захисний механізм, а збільшення кількості поліплоїдних гепатоцитів при етанол-індукованому гепатиті також частково може показувати антирегенераторний вплив етанолу на гепатоцити [360].

Відомо, що поліплоїдія підсилюється частковою резекцією печінки, токсин-індукованими хворобами печінки, при застосуванні специфічних факторів росту та гормонів, а також є компенсаторно-пристосувальним механізмом відбраковування старіючих субпопуляцій клітин при патології в процесі старіння [200, 202, 239, 374]. Клітини печінки, які регенерували після часткової гепатектомії, які мають значно більший середній рівень плоїдності, володіють меншою регенераторною здатністю, ніж гепатоцити інтактних щурів [201, 239, 374].

Виживання і продовження програм розвитку поліплоїдних клітин при наявності сприятливих факторів, за даними літератури [374, 378, 522], може

спричиняти неоплазію. Аналіз регенераційного потенціалу печінки після її ушкодження показав, що паренхіматозні клітини, як і інші спеціалізовані клітини організму, втрачають їх реплікативний потенціал після настання кінцевої диференціації. Проте відомо, що втрата значної частини печінкової тканини компенсується за рахунок інтенсивного поділу диференційованих гепатоцитів, але без відтворення структури печінкових часточок [221, 443].

Таким чином, залишається незрозумілим, чи має вплив збільшення плоідності, яка спостерігається при репаративній регенерації печінки у умовах патології, на виживання і функціональні властивості популяцій гепатоцитів, чи впливає сам факт збільшення кількості ДНК і кількості ядер в клітинах на їх стійкість до стресових чинників і функцію.

Репаративна регенерація печінки проявляється проліферацією клітин паренхіми і сприяє не лише відновленню маси органу і підтриманню основних функцій печінки, але й резорбції ПКМ [157].

Репаративна регенерація, на відміну від фізіологічної, відбувається в патологічних умовах, пов'язаних із ушкодженням тканини, які ініціюють загибель клітин шляхом некрозу і передбачає заміну померлих клітин за рахунок ресурсів стовбурових клітинних резервів організму [101, 232, 233, 381, 443]. Існування уніпотентних стовбурових клітин в печінці на сьогоднішній день доведено. Повідомляється, що гемопоетичні стовбурові клітини здатні трансдиференціюватися з утворенням гепатоцитів [233, 381]. Добре відомо, що стовбуровий простір клітин крові локалізований у кістковому мозку. Зокрема в ньому депоновані не лише гематогенні стовбурові клітини попередниці мієло-, лімфо-, еритро- і тромбоцитопоезу, але й мезенхімальні стовбурові клітини, мультипотентність яких реалізується в генерації елементів сполучної тканини, гепатоцитів, ендотеліоцитів, міобластів, тощо [221, 233].

Стовбуровий простір печінки володіє унікальним реплікаційним потенціалом, оскільки складається відразу з трьох компонентів: гепатоцитів, які проявляють властивості уніпотентних поліплоїдних клітин, овальних

клітин жовчних протоків Геринга і стовбурових клітин кісткового мозку [101]. Гепатоцити у ссавців представляють собою диференційовані поліплоїдні клітини, які при нормальних умовах стабільно знаходяться у фазі G0/G1 клітинного циклу. Тривалість існування таких мітотично інертних гепатоцитів відповідає тривалості життя людини [233]. Проте у випадку втрати частини паренхіми печінки гепатоцити проявляють практично безмежну здатність до розмноження при надзвичайно високій швидкості регенерації. Так відомо, що при багаторазовій хірургічній резекції (в сумі від 70 до 80 % клітинної маси паренхіми печінки) її відновлення відбувається за 5-6 днів. В експериментах з отруєнням CCl<sub>4</sub> доведено, що навіть при восьмикратному введенні з інтервалом в 1 місяць відбувається повне відновлення маси ушкодженої печінкової тканини [239]. Також на трансгенних мишах (ALuPA, Fah<sup>-/-</sup>) доведено, що зрілі гепатоцити у порівнянні з іншими соматичними клітинами мають більший ліміт Хейфліка, проявляючи здатність до понад 100 реплікативних циклів і повністю репопулюють печінку у тварин VI-VII трансплантаційного покоління [510].

Отже, гепатоцити характеризуються здатністю до самовідновлення протягом усього життя організму, що є однією з основних характеристик клітин стовбурових просторів і дозволяє розглядати диференційовану клітину паренхіми печінки як уніпотентну стовбурову клітину [101, 431]. Вважають, що уніпотентність гепатоцитів пов'язана із поліплоїдним набором хромосом. У постнатальному онтогенезі розмноження гепатоцитів характеризується чергуванням завершених та ацитокінетичних мітозів, що відповідно веде до стану одно- і двоядерності. Двохядерні диплоїдні клітини не здатні до самовідновлення, в результаті чого у дорослих тварин ці поодинокі клітини печінки зберігаються як попередники всього ряду поліплоїдних гепатоцитів. Після ушкодження печінки мітози без цитокінезу виключаються і поділ клітин відбувається за традиційним, завершеним типом, в результаті чого популяція гепатоцитів, що проліферує, стає одноядерною. Таким чином, двохядерні клітини закладаються при

нормальному повільному рості печінки як потенційні джерела майбутнього клону одноядерних поліплоїдних гепатоцитів з необмеженим числом нащадків в умовах регенерації [233].

Ще одним стовбуровим простором печінки є овальні клітини, що локалізуються в термінальних жовчних протоках – каналцях Геринга. Вважається, що овальна клітина уявляє собою частково комітовану клітину, яка розпізнається фенотипово, яка походить з латентного стовбурового резерву печінки [275, 357]. Клітини цього резерву складають так званий факультативний стовбуровий резерв печінки, оскільки овано-клітинна проліферація починається лише тоді, коли блоковано поділ поліплоїдних гепатоцитів, що доведено експериментально [232, 437].

Для печінки встановлені також і позапечінкові джерела стовбурових клітин, здатних трансформуватися в овальні клітини і лінію диференційованих гепатоцитів, наприклад, клітини кісткового мозку [274, 357], ацинарні клітини тканини підшлункової залози [101]. Проте незважаючи на надзвичайно високий регенераційний потенціал гепатоцитів, існує велика кількість захворювань, при яких настає печінкова недостатність.

Загальновизнано, що печінка має високу регенераційну можливість у відповідь на ушкодження хімічними речовинами чи часткову резекцію, що примушує гепатоцити переходити з фази спокою  $G_0$  у наступні фази клітинного циклу:  $G_1$ , S,  $G_2M$ . При цьому збільшується кількість популяцій диплоїдних клітин і зменшується кількість тетраплоїдних [296]. Проте відомо, що активація регенерації та поліплоїдизації робить можливим розвиток геномних ушкоджень та призводить до розвитку ГЦК [312, 511].

При ушкодженні печінки, за даними [542], збільшується співвідношення між диплоїдними (2c) та тетраплоїдними (4c) клітинами, що доводить розвиток змін у ДНК ядер гепатоцитів на дію ушкоджуючих чинників.

В експерименті на дорослих щурах доведено, що процеси проліферації та поліплоїдизації гепатоцитів у печінці контролюються ендокринною системою. Встановлено, що введення трийодтироніну значно збільшує проліферативний потенціал гепатоцитів, оскільки при цьому зростає кількість клітин, які знаходяться у фазі синтезу (S) ДНК клітинного циклу (КЦ) [530]. Доведено, що статеві гормони та соматотропін не мають значного впливу на ці процеси. Також в експерименті встановлено, що стать тварини не впливає на плоїдність ДНК гепатоцитів, тоді як вік є визначальним фактором цього явища, оскільки з віком збільшується кількість тетраплоїдних клітин і значно зменшується відсоток ядер клітин, які перебувають у S-фазі [511].

Ушкодження печінки, морфологічним проявом якого є загибель її паренхіми, стимулює регенерацію органу, активує різноманітні клітинні джерела до відновлення його маси. Вважають, що основним джерелом відновлення маси печінки після її часткової резекції є проліферація зрілих диференційованих гепатоцитів. Доведено, що ці клітини здатні суміщати тканинносPECIFIC і проліферативні синтези. Тому головним джерелом збільшення кількості диплоїдних гепатоцитів, як у нормальній, так і в патологічно зміненій печінці, що регенерує, слід вважати проліферацію диплоїдних гепатоцитів, які вступають в мітотичний цикл активніше за поліплоїдні [374]. Відомо, що проліферативний потенціал різних субпопуляцій гепатоцитів може відрізнитися у декілька разів [101, 229]. Зменшення середнього рівня плоїдності популяції може відбуватися і за рахунок переважної загибелі поліплоїдних гепатоцитів. Дані за можливість вибіркової загибелі поліплоїдних клітин існують [374, 482].

Відновлення втраченої маси паренхіми печінки поряд з проліферацією може відбуватися також за рахунок регенераційної гіпертрофії клітин [202]. Проте в процесі спонтанного відновлення циротично зміненої печінки щурів, спричиненої введенням тетрахлорметану, після припинення токсичного впливу переважне значення у прирості маси органу має проліферація, тобто



регенераційна гіперплазія, а не гіпертрофія клітин [201, 450]. Посилена проліферація 2с-гепатоцитів безсумнівно свідчить про збереження високого регенераційного потенціалу ушкодженим органом. Проте не виключено, що підвищений рівень проліферативної активності клітин з диплоїдним ядром на певному етапі, коли відновлена нормальна маса паренхіми печінки, може стати процесом, який гальмує подальшу функціональну нормалізацію через конкурентні відносини між тканиннospецифічними та проліферативними синтезами [202].

За результатами досліджень деяких авторів [200, 218] розвиток експериментального токсичного  $\text{CCl}_4$  та етанол-індукованого гепатиту у статевозрілих тварин супроводжується збільшенням середнього рівня плоїдності гепатоцитів більш ніж на 20 %, за рахунок збільшення як кількості октаплоїдних клітин, так і появи нетипових для інтактних тварин поліплоїдних ядер з набором ДНК 16с, і навіть двоядерних гепатоцитів з набором ДНК 16с x 2. Збільшена у порівнянні з нормою частка поліплоїдних клітин є характерною особливістю популяції гепатоцитів у патологічно зміненій печінці [201, 202].

Збільшення кількості клітин у S-фазі при частковій гепатектомії у молодих щурів спостерігали й інші автори [541], що свідчить, на їх думку, про посилену регенерацію печінки.

Регенерація циротично зміненої печінки після її часткової резекції на ранніх етапах відбувається головним чином за рахунок проліферації диплоїдних гепатоцитів (гіперплазії), а також за рахунок поліплоїдизації клітин паренхіми. Лише на кінцевих етапах домінує процес гіпертрофії клітин, який відбувався паралельно із деполіплоїдизацією паренхіми [202]. Навіть після відновлення маси ушкодженої печінки, структура популяції гепатоцитів патологічно зміненого органу продовжує відрізнятися від норми, зокрема частка високоплоїдних клітин в ньому залишається на порядок вище, ніж в нормальній печінці щурів однакового віку. Це є ще одним доказом того, що зниження середнього рівня плоїдності популяції гепатоцитів

досягається головним чином за рахунок високої проліферативної активності низькоплоїдних гепатоцитів. Посилена проліферація 2с-гепатоцитів безсумнівно свідчить про збереження цирозним органом високого регенераторного потенціалу. Не виключено, що підвищений рівень проліферативної активності цих клітин на певному етапі, коли досягнута достатня для нормального функціонування маса паренхіми печінки, може стати процесом, який гальмує подальшу функціональну нормалізацію через конкурентні взаємини між тканинноспецифічними і проліферативними синтезами [202].

Експериментально встановлено, що в ушкодженій печінці відбуваються зміни складу популяції гепатоцитів – поява клітин більш високої плоїдності, зсув розподілу за класами плоїдності вправо [78, 200, 201, 202, 218].

При дослідженні плоїдності ДНК одно- та двоядерних гепатоцитів у хворих на ХВГ встановлено, що відсоток тетраплоїдних та октаплоїдних ядер гепатоцитів у клітинах з одним чи з двома ядрами є однаковим, і не залежить ні від активності запального процесу, ні від ступеня фіброзу, як і не залежить від етіології хронічного гепатиту [532].

Отже, невирішеними на даний момент завданнями є: проблема вікових особливостей патогенезу ХВГ у дітей. Невідомі імунні та цитокінові механізми їх хронізації і прогресивності у віковому аспекті. Залишається відкритим питанням, чи можна оцінити ступінь активності запалення і фіброгенезу на основі дослідження рівня цитокінів у сироватці крові при ХВГ. Нез'ясований патогенез та морфогенез позапечінкових ускладнень ВГ, які слугують причиною смерті дітей. На даному етапі розвитку дитячої гепатології вибір лікарських засобів патогенетичної терапії часто носить емпіричний характер через відсутність глибокого та всебічного обґрунтування показів до їх застосування, з урахуванням особливостей дитячого організму в цілому. Ефективність лікарських засобів раціональної патогенетичної терапії, які застосовуються при даній патології у дітей

різного віку, у порівняльному аспекті вивчена недостатньо. Актуальним питанням є фармакологічна стимуляція репаративної регенерації патологічно зміненої печінки і дослідження її клітинних механізмів.

Матеріали даного розділу опубліковані в статтях [130, 132, 135, 172, 176, 178, 188, 198].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Матеріал і методи клінічних досліджень

**Матеріал клінічних досліджень.** У відповідності з поставленою метою і завданнями проведено аналіз медичної документації 124 дітей, хворих на ВГ. Зокрема проаналізовано дані клінічного та параклінічного обстеження із карти диспансерного спостереження та історій розвитку 98 дітей, хворих на ХВГ В і С, віком від 8 місяців до 18 років, які перебували на диспансерному спостереженні при кафедрі дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова на базі Вінницької обласної дитячої клінічної інфекційної лікарні, а також в Обласних спеціалізованих будинках дитини м. Вінниці та м. Хмельницького «Берізка» з 2003 по 2010 рік. Критеріями включення до дослідження було встановлення у хворого діагнозу ХВГ В або ХВГ С на підставі комплексу клінічних, серологічних, біохімічних, імунологічних показників, результатів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) – ДНК HBV та РНК HCV, ультразвукового дослідження органів черевної порожнини з визначенням розмірів печінки, її ультразвукової щільності, стану судин, жовчовивідних шляхів, селезінки, а також радіоізотопного дослідження печінки. Для виключення інфікування вірусами інших гепатитів проводилось дослідження наявності антитіл до вірусів гепатиту А (анти-HAV) та D (анти-HDV), маркерів цитомегаловірусної та Епштейн-Барр вірусної інфекції. Усім хворим також визначали генотип вірусу та вірусне навантаження.

Контрольну групу склали 63 практично здорових HBsAg- та анти-HCV-негативних дитини відповідного віку : до 1 року – 10 осіб (15,87 %), 1-3 років – 18 осіб (28,57 %), 4-6 років – 14 осіб (22,22 %), 7-11 років – 12 осіб (19,05 %), 12-18 років – 9 осіб (14,29 %).

Для ретроспективного (з 1998 по 2010 рік) дослідження відібрано 26 протоколів розтину померлих дітей з діагнозом «вірусний гепатит» та «фетальний гепатит». У тому числі у Вінницькому обласному патологоанатомічному бюро – 20, у Хмельницькому Державному патологоанатомічному центрі України – 5, у Вінницькому обласному бюро судової експертизи – 1 акт розтину.

Для дослідження залучались збережені в архівах мікропрепарати некропсій, які реставрувались і вивчались з позиції виявлення морфофункціональних особливостей даної патології та морфологічних маркерів ХВГ В і С.

**Клінічна характеристика хворих дітей диспансерної групи.** За віком хворі були розподілені на п'ять груп (за класифікацією періодів дитячого віку Т. В. Капітан, 2006 [80]) наступним чином : діти грудного віку - від 8 місяців до 1 року склали першу групу (n=10, 10,21 %), від 1 до 4 років (перед дошкільний вік) у кількості 16 осіб (16,33 %) – другу групу, діти від 4 до 7 років (дошкільний вік) – 10 осіб (10,21 %) увійшли до третьої вікової групи, хворі від 7 до 12 років (молодший шкільний вік) – 18 осіб (18,37 %) склали четверту вікову групу, до п'ятої групи увійшли хворі від 12 до 18 років (старший шкільний вік або підлітки) у кількості 44 осіб (44,90 %). Середній вік хворих склав  $10,04 \pm 5,73$ . Таким чином, серед обстежених осіб переважали діти шкільного віку, що склало 63,27 % випадків (табл. 2.1).

*Таблиця 2.1*

**Розподіл хворих на ХВГ в залежності від віку  
та нозологічної форми захворювання**

Вік	ХВГ В		ХВГ С		Всього	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Діти 1 року життя	5	5,1	5	5,1	10	10,2
Від 1 до 4 років	6	6,1	10	10,2	16	16,3
Від 4 до 7 років	2	2,0	8	8,2	10	10,2
Від 7 до 12 років	9	9,2	9	9,2	18	18,4
Від 12 до 18 років	17	17,4	27	27,5	44	44,9
Всього	39	39,8	59	60,2	98	100

Серед обстежених осіб чоловічої статі було 58 (59,2 %), жіночої – 40 (40,8 %) (табл. 2.2). Співвідношення хлопчиків та дівчаток у пропорції 1,32 : 1.

Переважає кількість хворих були мешканцями міста – 60 дітей (61,2 %), 27 осіб (27,6 %) – села, 11 дітей (11,2 %) перебувало у Будинку дитини.

Таблиця 2.2

**Розподіл хворих на ХВГ в залежності від статі  
та нозологічної форми захворювання**

Нозологічна форма захворювання	Стать				Всього	
	Хлопчики n=45		Дівчатка n=34			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ХВГ В	23	23,5	16	16,3	39	39,8
ХВГ С	35	35,7	24	24,5	59	60,2
Всього	58	59,2	40	40,8	98	100

**Характеристика летальних випадків вірусних гепатитів у дітей.**

Клінічний діагноз ВГ був прижиттєво підтверджений у 7 хворих (26,9 %) за допомогою виявлення специфічних маркерів. Так, діагноз ВГ В був встановлений у 4 хворих (15,4 %) за допомогою виявлення специфічних маркерів методом імуноферментного аналізу (HBsAg, HBeAg та anti-HBc IgM) та ДНК HBV методом ПЛР, ВГ С – у 2 хворих (7,7 %) за допомогою виявлення анти-HCV методом ІФА та РНК HCV методом ПЛР, ВГ В+С - у 1 хворого (3,8 %) за допомогою виявлення HBs-антигену та анти-HCV методом ІФА, а також ДНК HBV та РНК HCV методом ПЛР. У 19 померлих дітей (73,1 %) дослідження на маркери ВГ не проводилось, найчастіше через короткочасне перебування у стаціонарі. Проте ретроспективно при з'ясуванні сімейного анамнезу у 7 випадках (26,9 %) було встановлено, що батьки померлої дитини першого року життя є інфіковані HBV, у 3 випадках (11,5 %) – HCV.

Розподіл за патологоанатомічними діагнозом був наступним : вроджений ВГ В – 4 осіб (15,4 %), ВГ В+С – 1 (3,8 %), ВГ С – 2 (7,8 %), ВГ неуточної етіології – 2 (7,8 %), хронічна печінково-клітинна недостатність з цирозом печінки – 3 (11,5 %), фетальний вірусний гепатит з невиявленим збудником

(виключена цитомегаловірусна, герпетична та токсоплазмозна етіологія) – у 14 дітей (53,8 %).

Серед померлих осіб чоловічої статі було 15 (57,7 %), жіночої – 11 (42,3 %). За віком хворі були розподілені наступним чином: новонароджені (до 30 діб) – 17 осіб (65,4 %), від 1 місяця до 1 року – 5 (19,2 %), від 12 до 18 років – 4 осіб (15,4 %). Таким чином, найчастіше помирали діти першого року життя, що склало 84,6 % випадків. Серед померлих переважали мешканці сільської місцевості (n=18, 69,2 %).

Тривалість перебування у стаціонарі становила від 2 годин до 31 доби (в середньому 11,5 діб). Менше 1 доби у лікарні перебували 38,5%, від 1 до 5 діб – 23,1 %, від 20 до 31 доби – 38,5 % хворих.

**Методи клінічних досліджень та їх обґрунтування. Клінічні та загальноприйняті параклінічні методи досліджень.** Проводився ретельний аналіз даних карти диспансерного спостереження за хворим на ХВГ В та ХВГ С, а також історій розвитку дітей із ХВГ В і ХВГ С, які перебували у Хмельницькому спеціалізованому будинку дитини «Берізка». При цьому аналізувалися дані загального та епідеміологічного анамнезу, ретроспективне встановлення можливих термінів від початку захворювання, дані об'єктивного клінічного обстеження, а також комплексу біохімічних, імунологічних та імунобіологічних досліджень. Діагноз ХВГ В та ХВГ С встановлювався на підставі проведеного клініко-параклінічного дослідження відповідно до класифікації хронічних гепатитів, прийнятої в Лос-Анджелесі у 1994 році на Міжнародному конгресі гастроентерологів та згідно до Міжнародної класифікацією хвороб (МКХ-10).

Етіологія ВГ та фаза інфекційного процесу визначалась за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та методом ампліфікації з використанням ПЛР. Зокрема, ХВГ В діагностували за наявністю специфічних маркерів : HBsAg, HBeAg, анти-HBc IgM, анти-HBc IgG, анти-HBe, ДНК HBV. Про активну реплікацію вірусу свідчили наявність в сироватці крові HBeAg, анти-HBc IgM, та ДНК HBV понад 6 місяців. ХВГ С верифікували за наявністю в

сироватці крові анти-HCV IgG, анти-HCV IgM, антитіл до неструктурних білків (анти-HCV NS3, NS4 та NS5), а також РНК HCV понад 6 місяців. Фаза реплікації у хворих на ХВГ С характеризувалась наявністю у сироватці крові анти-HCV IgM та РНК HCV.

Крім специфічних методів діагностики, усім хворим призначались загальноклінічні методи лабораторного та інструментального обстеження : розгорнутий аналіз крові з підрахуванням лейкоцитарної формули та кількості тромбоцитів, загальний аналіз сечі, ультразвукового дослідження органів черевної порожнини, радіоізотопне сканування печінки, доплерографія печінки, при показаннях – фіброгастродуоденоскопія, консультація ендокринолога.

У всіх хворих дітей визначали показники загальноклінічного лабораторного обстеження. Стандартні біохімічні дослідження проводились уніфікованими методами і включали визначення : активності ферментів АЛТ, АСТ, ЛФ; вмісту білірубину і його фракцій, загального білку, білкових фракцій, ГГТП, показників тимолової, сулемової проби, сечовини, креатиніну, глюкози крові, протромбінового часу, фібриногену, часу рекальцифікації плазми. Показники ліпідного обміну визначали за вмістом у сироватці крові холестерину та  $\beta$ -ліпопротеїнів.

Для оцінки ЦС враховували дані біохімічного дослідження крові, а саме рівень активності трансаміназ (АЛТ та АСТ) з наступним підрахуванням коефіцієнту Де Рітіса (КДР) – співвідношення АСТ/АЛТ, яке  $\leq 1$  при запальному типі цитолізу, а  $\geq 1$  – при його некротичному типі. При цьому враховували, що АЛТ є цитоплазматичним ферментом, а АСТ – цитоплазматично-мітохондріальним [143, 538].

Ступінь активності запального процесу встановлювали за активністю АЛТ у сироватці крові : мінімальна активність при підвищенні АЛТ у 1,5-2 рази, низька – у 3-5 разів, помірна – у 6-9 разів, висока – більше, ніж у 9 разів [234].

Для характеристики МЗС оцінювали показники осадочних реакцій (тимолова і сулемова проби), рівень  $\gamma$ -глобулінів, загального білку сироваткових IgA, M, G. Виразність ХС визначали за рівнем загального



білірубіну та його фракцій, активністю ЛФ, ГГТП, кількістю холестерину та  $\beta$ -ліпопротеїнів крові. Для оцінки гепатопритивного синдрому (печінково-клітинної недостатності) визначали вміст альбуміну, загального білку крові, холестерину, сечовини, креатиніну, загального білірубіну та його фракцій, протромбіновий індекс та фібриноген крові.

Дослідження сироватки крові проводили на біохімічному аналізаторі «Vital Microlab 300» (США), при цьому використовувались реактиви фірми «Pointe Scientific Inc» (США). Зокрема вміст загального білку в сироватці крові визначали біуретовим методом, альбуміну - за реакцією з бромкрезоловим зеленим, АЛТ та АСТ – методом кінетики при температурі 37<sup>0</sup>С, тимолову пробу – за реакцією з тимолово-вероналовим буфером, рівень загального, прямого та непрямого білірубіну – діазореакцією при температурі 37<sup>0</sup>С, активність ЛФ – реакцією з нітрофенілфосфатом методом кінетики при температурі 37<sup>0</sup>С,  $\beta$ -ліпопротеїнів – турбідиметричним методом.

**Імунологічні методи дослідження.** Проведено імунологічне дослідження периферичної крові 50 дітей, хворих на ХВГ, які перебували на диспансерному спостереженні та лікуванні в Обласній клінічній дитячій інфекційній лікарні м. Вінниці та Хмельницькому спеціалізованому будинку дитини.

У 28 дітей (56,0 %) діагностовано ХВГ С, у 22 осіб (44,0 %) – ХВГ В. Серед обстежених осіб чоловічої статі було 30 (60,0 %), жіночої – 20 (40,0 %). Розподіл дітей за віком був наступний : діти до 1 року – 10 осіб (20,0 %) увійшли до першої групи, від 1 до 4 років – 16 осіб (32,0 %) – до другої групи, від 4 до 7 років – 10 осіб (20,0 %) склали третю групу, від 7 до 12 років – 5 осіб (10,0 %) – до четвертої групи, від 12 до 18 років – 9 осіб (18,0 %) склали п'яту групу. На момент проведення імунологічного дослідження жоден із хворих не отримував специфічного противірусного лікування.

Діти першого року життя були інфіковані вертикальним шляхом.

Визначення основних популяцій і субпопуляцій імунокомпетентних клітин, а саме : кількості Т(CD3+)-лімфоцитів, В(CD22+)-лімфоцитів,

регуляторних субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+), Т-ефекторів (CD8+), натуральних кілерів (NK-CD16+) та Т-лімфоцитів, що експресують рецептор для ІЛ-2 (CD25+) проводилось методом непрямой імуофлюоресценції. Використовувались комерційні моноклональні антитіла класів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD25+, CD22+ фірми «Діаєм» (РФ-Москва). Вираховували також загальну кількість лейкоцитів крові, кількість лімфоцитів у абсолютних та відносних величинах, а також деякі співвідношення : імунорегуляторний індекс (ІРІ) - CD4+/CD8+ та CD3+/CD22+. Ступінь імунних розладів розраховували за формулою, запропонованою А. М. Земсковим і співавт. (1999). Якщо отримана величина перебуває в інтервалі від 1 до 33 %, це відповідає I ступеню імунних розладів, від 34 до 66 % – II ступеню, понад 66 % – III ступеню імунних розладів. Знак «+» свідчить про гіперфункцію, а «-» – про її нестачу [62].

Рівень імуноглобулінів у сироватці крові класів А, М та G, а також вміст  $\alpha$ -фетопротеїну ( $\alpha$ -ФПН) визначався методом ІФА на імуноферментному аналізаторі Numareader 2106 (США), використовувались реактиви фірми «Гранум» (Україна).

Імунологічні дослідження виконані під керівництвом д.мед.н., професора Пухлика Б. М. на базі імунологічної лабораторії «Імунолог» (ліцензія МОЗ України серія АВ №539053).

Для оцінки цитокинового статусу в сироватці крові 61 хворої дитини на ХВГ В і С, а також 74 практично здорових дітей контрольної групи визначали вміст про- та протизапальних цитокинів – ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, TNF- $\alpha$ , ІФН- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$  методом ІФА з використанням наборів виробництва «Вектор-Бест» (РФ-Новосибірск), вміст профіброгенного та протизапального TGF- $\beta$ 1, а також IGF-1 визначали з використанням високочутливих комерційних наборів «DRG» (Німеччина).

Біохімічні та імуноферментні дослідження проводили у клініко-діагностичній лабораторії Вінницького обласного клінічного

ендокринологічного диспансеру (атестат акредитації вимірювальної лабораторії серія КДЛ №001030 видане 1 грудня 2008 року, чинне до 30 листопада 2010 р.).

Слід відмітити, що аналіз показників цитокинового профілю та імунного статусу проводили окремо у дітей різного віку.

Для оцінки процесів метаболізму СТ визначали рівень деяких продуктів її обміну у сироватці крові, а саме : концентрацію вільного та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну [257].

**Морфологічні методи дослідження летальних випадків.** Для ретроспективного наукового дослідження було взято секційний матеріал (некропсії) 26 померлих на протязі 1998-2010 р.р. дітей у Вінницькій області з діагнозом «вірусний гепатит В», «вірусний гепатит С», «вірусний гепатит В+С», «фетальний гепатит» та «цироз печінки». Особливу цінність мали протоколи розтинів задокументовані мікрофотографіями гістологічних змін печінки (Державний патологоанатомічний центр України).

Для дослідження залучались збережені в архівах мікропрепарати некропсій, які реставрувались і вивчались повторно з позиції виявлення вікових морфофункціональних особливостей та морфологічних маркерів ВГ В і С.

Зрізи тканин виконані на санному мікротомі і зафарбовані гематоксилін-еозином та за Ван Гізон. Гістологічне дослідження секційних препаратів було проведено з використанням мікроскопу «OLYMPUS BN-2» зі збільшенням від 100 до 400 разів. Активність запального процесу у печінці та ступінь фіброзу оцінювали за системою METAVIR.

Аналізували анамнестичні дані, показники клініко-параклінічних методів дослідження із епікризу історій хвороб померлих дітей, а також вказаних у протоколах розтину.

## **2.2. Матеріал і методи експериментальних досліджень**

**Експериментальні тварини.** Дослідження проведені на 385 білих лабораторних статевонезрілих щурах самцях, віком 1,5 місяці, з початковою

масою тіла 50-70г. Вибір статевонезрілих тварин обумовлений необхідністю максимального наближення експериментальної моделі до патології, що вивчається у дітей [199].

Утримання тварин проводилось у віварії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова та відповідало загальноприйнятим правилам (Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологически клиник (вивариев), утвержденным МЗ СССР 06.07.73г.; Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.77г.). Тварини пройшли карантин в умовах віварію протягом 14 днів. Експериментальні групи формували методом випадкової вибірки з врахуванням віку та маси тіла тварин. При проведенні експерименту щодня спостерігали за загальним станом тварин, споживанням корму і води, один раз в тиждень визначали масу тіла. Розраховували сумарну тривалість життя піддослідних тварин, які входили в три досліджувані групи, виражених у щуро-днях і процентному співвідношенні двох названих показників до максимально можливої подовженості життя для даного строку спостереження і вірогідність різниці між дослідом і контролем [199].

Об'єктом дослідження в експериментальних тварин обрано :

1. печінку;
2. сироватку крові.

**Гепатопротектори, ефективність яких досліджувалась експериментальним методом у порівняльному аспекті.** Для експериментального дослідження відібрані найбільш уживані гепатопротектори різного походження, а саме вітчизняні : «Антраль» ВАТ «Фармак», «Артишока екстракт – Здоров'я» ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», «Глутаргін» ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», «Дарсіл» ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», «Тіотриазолін» АТ «Галичфарм», «Урсохол» ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» та зарубіжні : «Галстена» – «Біттнер» Австрія, «Ессенціале форте Н» – «Авентіс Фарма Дойчланд ГмбХ» Німеччина, «Біциклोल» «Бейджінг Юніон Фармасьютікал Фекторі» Китай.

Вибір перерахованих препаратів обумовлений тим, що вони дозволені Державним фармакологічним центром МОЗ України для застосування у дітей при захворюваннях печінки і впливають на різні ланки патогенезу ушкодження тканини печінки [50, 53, 105].

**Серії експериментальних досліджень.** Експерименти на тваринах здійснювали у відповідності до Правил проведення робіт з використанням лабораторних тварин (1977), Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986), Директиви ЄЕС №609 (1986) на наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин». Комісією з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова порушень цих принципів не виявлено (протокол № 13 від 7.10.2010 р.). При виконанні експериментальних досліджень дотримувалися рекомендацій О. В. Стефанова (2001) [199].

Експериментальні щури поділені на три серії досліджень. Кожна з них, у свою чергу, складалася із декількох підгруп дослідів, розподіл яких вказаний у табл. 2.3.

*Таблиця 2.3*

### **Серії експериментальних досліджень**

Серії досліджень		Кількість тварин
I	Створення моделі ХТГ та ЦП	45 щурів
II	Дослідження ефективності гепатопротекторів при ХТГ у порівняльному аспекті (лікувально-профілактичний режим введення)	210 щурів
III	Дослідження антифібротичної ефективності гепатопротекторів при ХТГ та ЦП у порівняльному аспекті (лікувальний режим введення)	130 щурів

**Серія № 1. Експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у статевонезрілих щурів.** Для наближення характеру змін, що настають у структурі і функції печінки тварин, до таких у

дитячому організмі, ми враховували рекомендації [199] і моделювали ХТГ та ЦП на статевонезрілих щурах.

Для I серії експерименту використано 45 статевонезрілих щурів. Проведено чотири типи моделювання ХТГ, для чого залучено по 10 щурів у кожній підгрупі дослідів. Контрольну групу склало 5 інтактних тварин.

При першому варіанті, моделювання ХТГ проводили шляхом одночасного інтрагастрального введення 20 % олійного розчину  $CCl_4$  та 40 % етилового спирту тричі на тиждень протягом 2-3 місяців за методикою І. Д. Мансурова та співав. (1976) [115].

У другому варіанті ХТГ відтворювався за моделлю Ю. В. Бакширова (2007) [13], відповідно до якої тваринам інтрагастрально вводили 25 % олійний розчин  $CCl_4$  з розрахунку 0,1 мл/100 г маси тіла двічі на тиждень і 5 % розчин етанолу замість води протягом чотирьох тижнів.

Третій варіант - модель експериментального фіброзу та ЦП, що включає інтрагастральне введення білим щурам 50 % олійного розчину  $CCl_4$  з розрахунку 0,1 мл/кг двічі на тиждень протягом 31 доби та 5 % розчину етанолу для пиття замість води за методикою Ю. В. Зіміна та співав. (2001) [63].

У четвертому варіанті моделювання розроблена і використана власна експериментальна модель, відповідно до якої двічі на тиждень протягом 60 днів інтрагастрально вводили 20 % олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси і в якості пиття замість води тваринам давали 5 % розчин етанолу. Розроблена нами експериментальна модель ХТГ та ЦП у статевонезрілих щурів є адекватною, яка захищена Деклараційним Патентом України на корисну модель [155].

У першій групі дослідів даної серії експерименту при використанні методики І. Д. Мансурова та співав. (1976) із застосуванням обох гепатотоксинів протягом 2-3 місяців, у наших спостереженнях тварини гинули : після другого введення - 2, після третього – 1, після четвертого – 2, після шостого – 1, після восьмого – 2, після десятого – 1 та після 12 введення пала остання тварина. Таким чином, через один місяць від початку створення моделі

усі статевонезрілі тварини загинули. Патоморфологічне дослідження померлих щурів показало, що причиною 100 % летальності експериментальних тварин слугувала гостра печінкова недостатність, через розвиток гострої токсичної дистрофії та поширеного некрозу печінки.

При другому варіанті моделювання з використанням експериментальної моделі Ю. В. Бакширова (2007) [13] летальність статевонезрілих щурів становила 40 %. Тварини цієї групи були кволими, втрачали масу тіла до 8,3 % у тиждень, а на кінець експерименту - до 33,3 % у порівнянні з тваринами контрольної групи. При патоморфологічному дослідженні тварин, які не загинули у період введення гепатотоксичних отрут, після закінчення досліду (через 1 місяць) гістологічно було виявлено розвиток білкової гідропічної з дрібними вогнищами коліквацийного некрозу та жирової дистрофії. Характерною була наявність запальної інфільтрації переважно портальних трактів (рис. 2.1), тобто ознаки хронічного гепатиту. Проте у жодному випадку не розвинувся ЦП, що пов'язано із короткою тривалістю досліду.

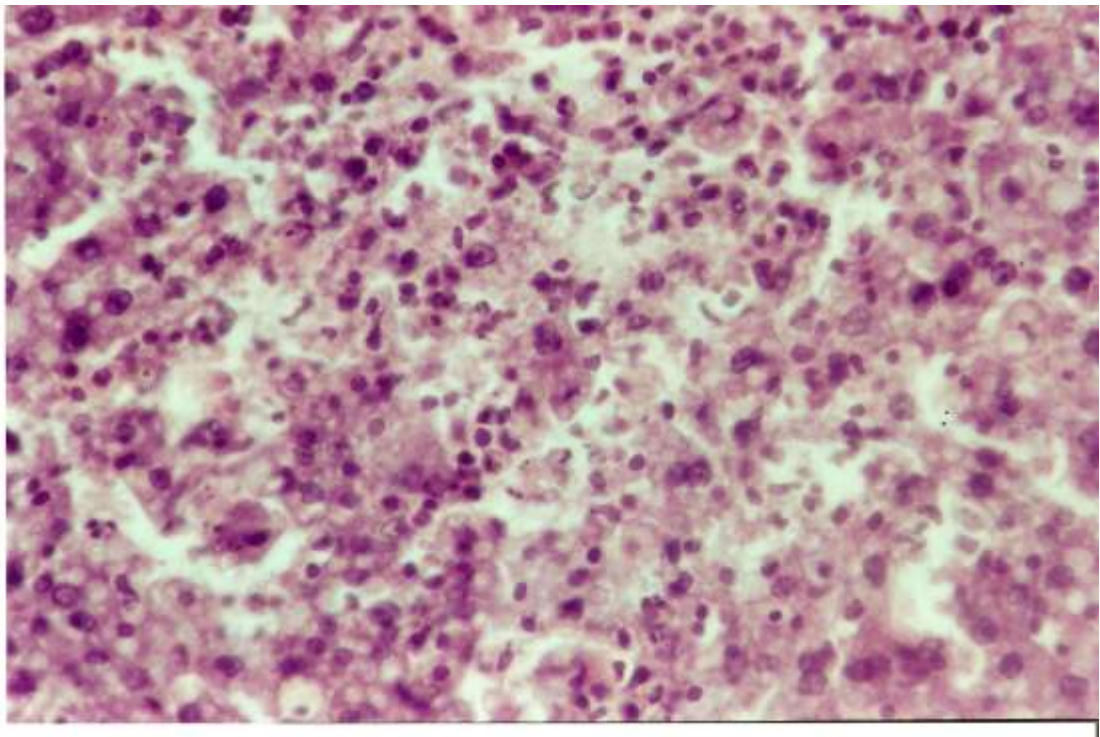


Рис. 2.1. Масивне вогнище некрозу з дифузною запальною інфільтрацією нейтрофільними лейкоцитами. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

При третьому варіанті досліді за методикою [63] летальність піддослідних статевонезрілих щурів сягала 100 % через розвиток ГПН, що аналогічно першому варіанту моделювання.

Невдалі спроби використання вищевказаних експериментальних моделей для відтворення ХТГ з розвитком фіброзу та виходу в ЦП у статевонезрілих щурів спонукали нас модифікувати відомі методики та створити власну модель експериментального фіброзу та ЦП. Для цього у четвертому варіанті досліді ми використали інтрагастральне введення 20 % олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси лише двічі на тиждень проте протягом 60 днів. Паралельно в якості пиття замість води тваринам давали 5 % розчин етанолу. Летальність при даному варіанті ХТГ становила лише 10 % (одна тварина пала на 8 тижні спостереження). На кінець досліді тварини були кволими, частково втрачали волосяний покрив, маса тіла на 16,7 % була меншою, ніж у тварин контрольної групи. При патоморфологічному дослідженні макроскопічно виявлено зменшення розмірів печінки, ущільнення тканини та навіть деформацію у вигляді горбистості. Гістологічно встановлено, що після завершення досліді в тканині печінки окрім осередків білкової та жирової дистрофії траплялись великі вогнища некрозу (рис. 2.2). На тлі вказаних альтеративних змін в печінці статевонезрілих щурів даної моделі характерними були розвиток запальних інфільтратів без чіткого розмежування та склерозу в порталних трактах. Всередині часточок замість центральних вен визначались дрібні септи сполучної, іноді незрілої, тканини та ознаки проліферації гепатоцитів і жовчних капілярів з формуванням несправжніх часточок (рис. 2.3). Вказані зміни нами трактувались як ознаки експериментального цирозу печінки.

Таким чином, створена нова експериментальна модель ХТГ та ЦП у білих статевонезрілих щурів, шляхом інтрагастрального введення 20 % олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень в комбінації з 5 % розчином етанолу в якості пиття протягом двох місяців відтворює хронічний гепатит із фібротичними та циротичними змінами у печінці і є більш адекватною для дитячого віку [155].



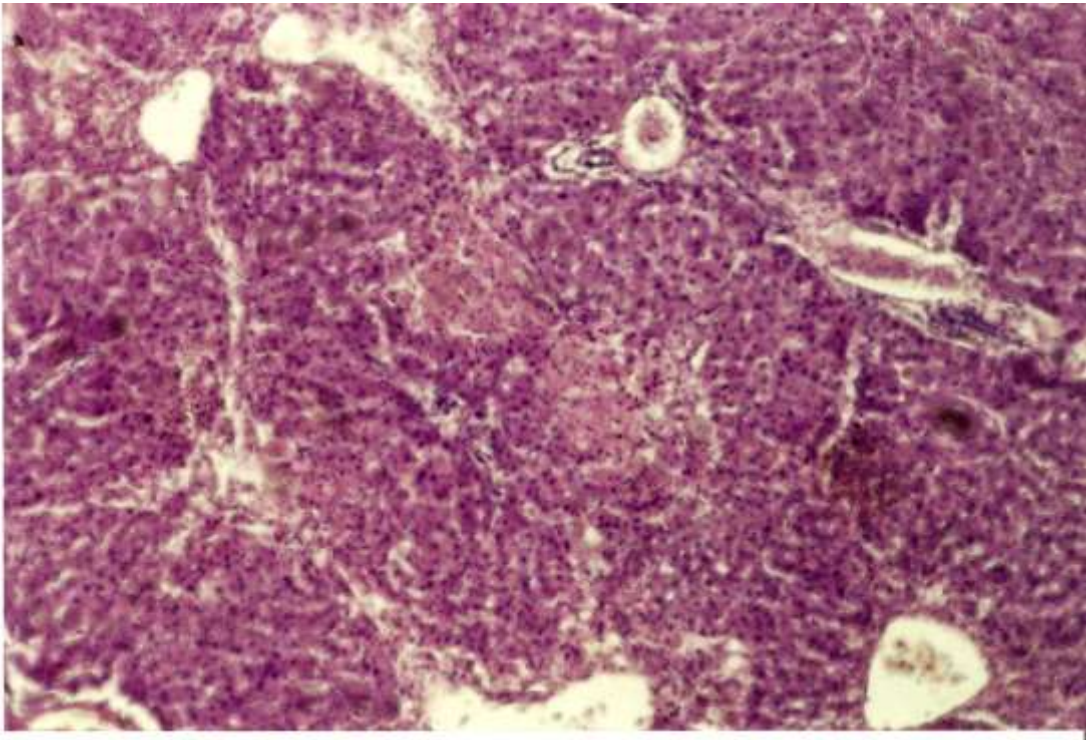


Рис. 2.2. Вогнища некрозу на тлі новоутворення фіброзних септ та склерозу портальних трактів. Збарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

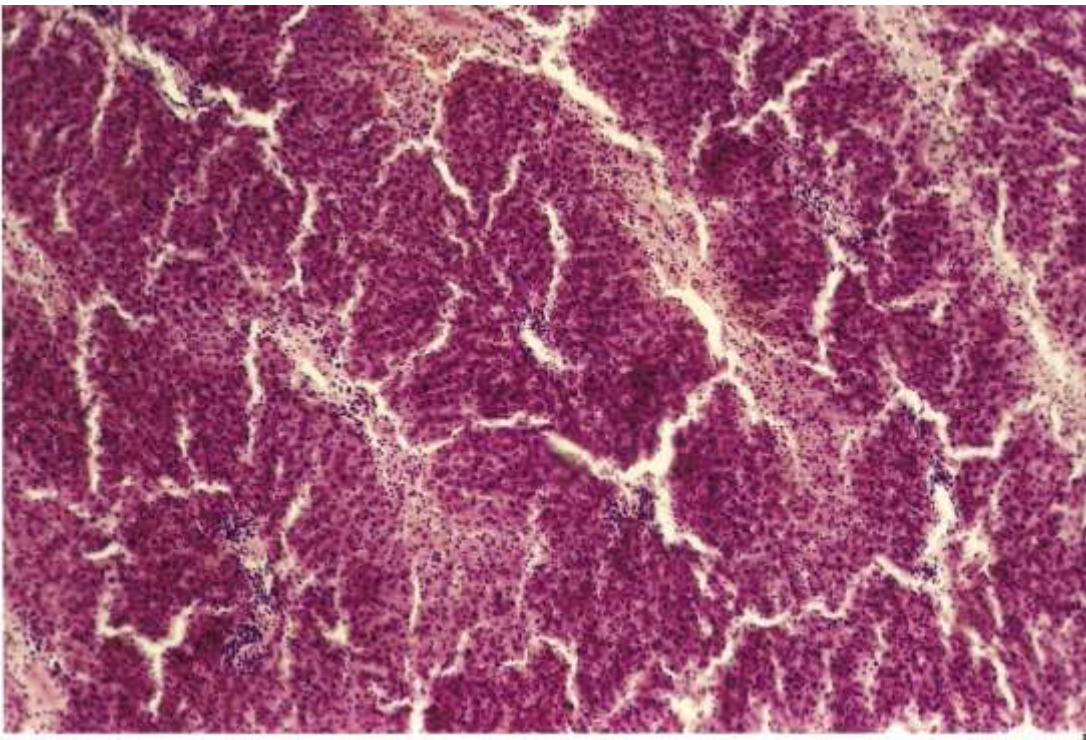


Рис. 2.3. Цироз печінки у щура. Збарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

Розроблена експериментальна модель ХТГ та ЦП у статевонезрілих щурів дає можливість проводити доклінічні дослідження фармпрепаратів для удосконалення лікування ХВГ та ЦП у дітей.

**Розробка способу неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки.** У сироватці крові статевонезрілих щурів контрольної і піддослідної групи з ХТГ та гістологічно підтвердженим ЦП методом ІФА провели кількісне визначення рівня  $\alpha$ -ФПН. У інтактних тварин контрольної групи вміст  $\alpha$ -ФПН коливався від 0 до 4,0 Од/мл (середнє значення –  $0,29 \pm 0,15$  Од/мл).

Визначення вмісту  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові статевонезрілих щурів з фіброзом та цирозом печінки підтвердженим морфологічно, показало наявність даного білку у всіх експериментальних тварин у кількості від 12 до 44,2 Од/мл (середнє значення –  $19,47 \pm 1,84$  Од/мл,  $p < 0,001$  проти контрольної групи).

Таким чином, проведене дослідження по визначенню вмісту  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові експериментальних тварин методом ІФА показало суттєве зростання даного білку в усіх щурів із фіброзом та цирозом печінки підтвердженим морфологічно, а також відсутність  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові інтактних тварин контрольної групи, що доводить чутливість даного методу. Тобто, наявність  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові обстежених тварин вище максимально допустимого рівня засвідчує наявність фіброзу чи цирозу печінки.

Даний спосіб діагностики фіброзу та ЦП, який передбачає визначення рівня  $\alpha$ -ФПН методом ІФА є неінвазивним швидким та високочутливим тестом для скринінгової діагностики фібротичних змін у печінці [156]. Запропонований метод визначення рівня  $\alpha$ -ФПН за допомогою імуноферментного аналізу дозволить проводити клінічні дослідження з метою скринінгової діагностики фіброзу та цирозу печінки у дітей з хронічною патологією печінки, а також для проведення моніторингу ефективності проведеної терапії.

**Серія № 2. Вивчення ефективності гепатопротекторів (лікувально-профілактичний режим введення) у порівняльному аспекті на моделі ХТГ.** Проведено II серію експериментального дослідження по вивченню

ефективності дев'яти гепатопротекторів («Антраль», «Артишока екстракт – Здоров'я», «Глутаргін», «Дарсил», «Гіотриазолін», «Урсохол», «Галстена», «Ессенціале форте Н», «Біциклон») на функціональний та морфологічний стан печінки в умовах ХТГ у білих статевонезрілих щурів у порівняльному аспекті.

Гепатопротекторну дію оцінювали за візуальною оцінкою зовнішнього стану, поведінкою, токсичними проявами, споживанням води та їжі, динамікою маси тіла, щоденною реєстрацією загибелі та відсотком виживання тварин в ході експерименту, а також за біохімічними та гістологічними показниками [199].

Експериментальні дослідження проведені на 210 статевонезрілих щурах, які перед початком експерименту були розподілені на 11 піддослідних груп.

Тварини першої групи (контроль) – 10 інтактних щурів, які перебували в стандартних умовах віварію.

Тваринам другої групи (n=20) впродовж шести тижнів двічі на тиждень інтрагастрально вводили 20 % олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси в комбінації з 5 % розчином етанолу в якості пиття (експериментальна модель ХТГ) [155].

Тваринам третьої групи (n=20), які знаходилися за умов експерименту, як і щурі другої групи, паралельно із гепатотоксинами щодня протягом шести тижнів вводили гепатопротектор «Антраль» у лікувально-профілактичному режимі за рекомендацією [199]. Даний режим передбачає пероральне введення ліків 1 раз на добу із розрахунку  $ED_{50}$ . Перерахунок середньотерапевтичної лікувальної дози рекомендованої для людини на 1 кг маси тіла на масу тіла щура проводився за константою біологічної активності за методикою Ю.Р. Риболовлева (1979) [197]. Для антралю  $ED_{50}$  становить 8 мг/кг [51]. У день введення  $CCl_4$  препарати вводились за 1 годину до введення гепатотоксину.

Тварини четвертої групи (n=20) знаходилися за тих же умов експерименту, як і щурі третьої групи, проте щоденно перорально отримували гепатопротектор «Артишоку екстракт – Здоров'я» у дозі  $ED_{50}$  (12 мг/кг).

Тваринам п'ятої групи (n=20) вводили препарат «Біциклол» у дозі ЕД<sub>50</sub> (20 мг/кг). Тварини шостої групи (n=20) отримували у якості лікування ХТГ препарат «Глутаргін» (30 мг/кг), тварини сьомої групи (n=20) – «Дарсіл» (25 мг/кг), восьмої (n=20) – «Ессенціалє» (24 мг ЕРL/кг), дев'ятої (n=20) – «Урсохол» (10 мг/кг), десятої (n=20) – «Тіотриазолін» (22,5 мг/кг), одинадцятої (n=20) – препарат «Галстена».

**Серія № 3. Вивчення антифібротичної ефективності гепатопротекторів (лікувальний режим введення) у порівняльному аспекті на моделі ХТГ та ЦП.** У III серії експерименту проводилось вивчення антифібротичної ефективності вищевказаних гепатопротекторів у порівняльному аспекті. З цією метою моделювання ХТГ та ЦП протягом проводилось двох місяців за аналогічною методикою [155], проте протягом усього періоду моделювання патології гепатопротектори не вводились. Після відтворення ХТГ та ЦП тваринам щодня у визначеній дозі вводили досліджувані препарати протягом шести тижнів.

Для III серії експерименту використано 130 щурів, із них 10 інтактних тварин склали контрольну (першу) групу, та 120 тварин (10 піддослідних груп по 12 щурів у кожній), яким протягом восьми тижнів (двічі на тиждень) вводили ССl<sub>4</sub> та етанол.

Другу групу дослідів (порівняння) склало 12 тварин із ХТГ та ЦП, які протягом шести тижнів після припинення введення гепатотоксинів не отримували лікування, а знаходились у стані «відпочинку».

Тваринам 3-11 піддослідних груп після припинення введення ССl<sub>4</sub> та етанолу, протягом наступних шести тижнів вводили гепатопротектори у лікувальному режимі, що передбачає пероральне введення ліків щодня 1 раз на добу із розрахунку ЕД<sub>50</sub> (аналогічно до другої серії експериментів).

Тварини 3 групи щоденно перорально отримували гепатопротектор «Антраль», 4 – «Артишоку екстракт – Здоров'я», 5 – препарат «Біциклол». Тварини 6 групи отримували у якості лікування ХТГ препарат «Глутаргін»,

тварини сьомої групи – «Дарсіл», восьмої – «Ессенціале форте Н», дев'ятої – «Урсохол», десятої – «Тіотриазолін», одинадцятої – препарат «Галстена».

**Забір біоматеріалу.** Після завершення експериментів наступного дня здійснювали виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації під легким ефірним наркозом. Для подальшого біохімічного та імуноферментного дослідження здійснювався забір крові.

Печінку тварин негайно вилучали. В стерильних умовах під капсулою з лівої великої частки із свіжого матеріалу вирізали шматочок тканини печінки розміром  $0,5 \text{ см}^3$ , який негайно промивали стерильним 0,9 % розчином NaCl і занурювали у фосфатно-сольовий буфер рН 7,4 (Sigma) в переносний холодильник з температурою  $4-8^{\circ}\text{C}$  для подальшого дослідження вмісту ДНК в ядрах клітин печінки методом проточної цитометрії (МПЦ). Решту тканини печінки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну для подальшого морфологічного дослідження.

**Біохімічні методи дослідження сироватки крові експериментальних тварин.** Гепатопротекторну дію препаратів, що досліджувалися, оцінювали за біохімічними показниками, які відображають білоксинтезуючу функцію печінки, наявність синдрому цитолізу та холестазу, а також за станом ліпідного обміну та ПОЛ. Так у сироватці крові експериментальних тварин визначення вмісту загального білку, альбуміну, АЛТ, АСТ, тимолової проби, рівень загального, прямого та непрямого білірубіну, ЛФ,  $\beta$ -ліпопротеїдів та ГГТП проводилось на біохімічному аналізаторі «Vital Microlab 300» (США), при цьому використовувались реактиви фірми «Pointe Scientific Inc» (США). Зокрема вміст загального білку в сироватці крові визначали біуретовим методом, альбуміну - за реакцією з бромкрезоловим зеленим, АЛТ та АСТ – методом кінетики при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , тимолову пробу – за реакцією з тимолово-вероналовим буфером, рівень загального, прямого та непрямого білірубіну – діазореакцією при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , вміст ЛФ – реакцією з нітрофенілфосфатом методом кінетики при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $\beta$ -ліпопротеїнів – турбідиметричним методом. Також у сироватці крові визначали рівень

кінцевого продукту ПОЛ – МДА за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [28] у Науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії на базі Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Луцюка М. Б. (атестат акредитації вимірювальної лабораторії серія КДЛ №002087).

**Імуноферментне дослідження сироватки крові експериментальних тварин.** Рівень імуноглобулінів у сироватці крові класів А, М та G, а також вміст  $\alpha$ -фетопротейну визначався методом ІФА на імуноферментному аналізаторі Humareader 2106 (США), використовувались реактиви фірми «Гранум» (Україна).

**Морфологічні методи дослідження тканини печінки експериментальних тварин.** За допомогою морфологічного дослідження оцінювали ступінь цілісності гепатоцитів, наявність білкової, жирової дистрофії, фіброзу і цирозу. Шматочки тканини печінки фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Шматочки фіксованої тканини проводили через батарею спиртів та заключали в парафін за загальноприйнятою методикою. Зрізи тканин виконували на санному мікроскопі і фарбували гематоксилін-еозином та за Ван Гізон. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) визначалась при обробці заморожених зрізів печінки за Нахласом. Аргірофільні волокна визначались при посрібленні зрізів азотнокислим сріблом за Гоморі. Гістологічне дослідження секційних препаратів було проведено з використанням мікроскопу «OLYMPUS BN-2» зі збільшенням від 100 до 400 разів. Активність запального процесу у печінці та ступінь фіброзу характеризували за системою METAVIR.

**Матеріал і методи для визначення вмісту ДНК (клітинний цикл, плідність, фрагментація ДНК) в ядрах клітин печінки щурів.** Вміст ДНК в ядрах клітин печінки, ізольованих з тканини печінки щурів з експериментальним хронічним токсичним гепатитом, а також інтактних тварин, досліджувався МПЦ. Суспензії ядер з клітин печінки одержували за допомогою спеціального набору для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA фірми Partec



(Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника кита. Даний набір дозволяє швидко і одночасно проводити екстракцію ядер і мітити ядерну ДНК діамідинофеніліндолом (ДАПІ), який використовується для визначення вмісту ядерної ДНК, а також для аналізу клітинного циклу [242, 338, 441, 540, 541] і входить до складу даного набору. Всі дослідження виконані в стерильних умовах на свіжому матеріалі тканини печінки не пізніше, ніж через 2 години після виведення тварини з експерименту. Враховуючи той факт, що регенерація різних ділянок печінки відбувається неоднаково [524], ми проводили забір зразків тканини печінки для проведення досліджень МПЦ з аналогічної ділянки в усіх піддослідних тварин (ліва велика частка). Печінку подрібнювали на шматочки розміром приблизно 1-2 мм<sup>3</sup> з наступною обробкою ДАПІ. Отриману нуклеарну суспензію тканини печінки пропускали через одноразові фільтри CellTrics з діаметром 50 мкм.

Проточний аналіз проводився на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" фірми Partec (Німеччина) у Науково-дослідному центрі Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Гунаса І.В. (атестат акредитації вимірювальної лабораторії на право проведення вимірювань у сфері охорони здоров'я серія ГНЛ № 002088, дата реєстрації 20 жовтня 2004 року; планова атестація у 2010 році – свідоцтво про атестацію вимірювальної лабораторії №003/10 видане 11 січня 2010 року, чинне до 10 січня 2015 р.). Для ініціації флуоресценції ДАПІ використовувалася ртутна УФ-лампа, реєстрація відбувалася в УФ-спектрі. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізувалося не менше 20 тисяч подій.

Розподіл ДНК, що відображає клітинний цикл, представлений на сторінці з однією гістограмою з використанням лінійної шкали (рис. 2.4).

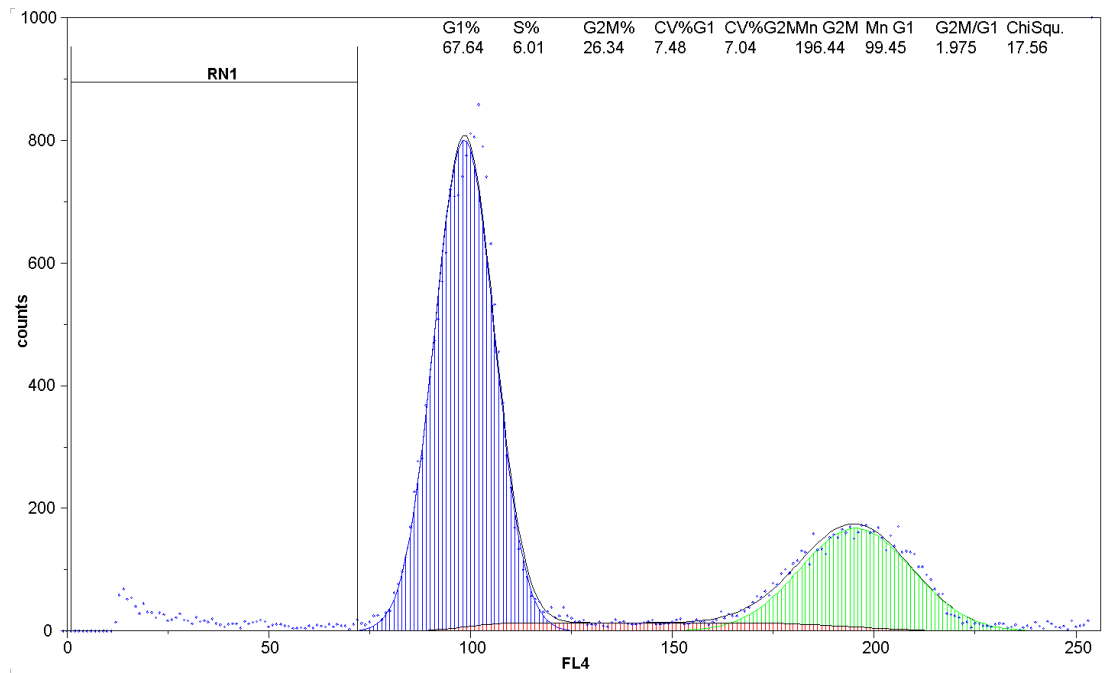


Рис. 2.4. Гістограма, на якій представлені фази клітинного циклу ядер гепатоцитів. Побудова кривої : синій – збіг фази  $G_1$  – відсоткове співвідношення клітин в інтервалі  $G_0/G_1$  до всіх клітин клітинного циклу; червоний – збіг фази S – відсоткове співвідношення клітин фази S до всіх клітин клітинного циклу; зелений – збіг фази  $G_2/M$  – відсоткове співвідношення клітин в інтервалі  $G_2/M$  до всіх клітин клітинного циклу; інтервал  $RN_1$  – субдиплоїдна ділянка, яка відображає фрагментацію ДНК у ядрах тканини печінки. Цифрові дані :  $CV \% G_1$  – відносний коефіцієнт варіації піку  $G_1$ ;  $CV \% G_2$  – відносний коефіцієнт варіації піку  $G_2M$ ;  $MnG_2M$  – середнє значення каналу піку  $G_2M$ ;  $MnG_1$  – середнє значення каналу піку  $G_1$ ;  $ChiSqu$  – змiряна варіація між експериментальними даними і відповідною математичною моделлю.

Циклічний аналіз клітин виконувався засобами програмного забезпечення FloMax (фірма Partec, Німеччина) з повною цифровою відповідністю. Цифрова відповідність експериментальним даним виконана згідно математичної моделі. Цифровий результат показаний у вікні циклічного аналізу клітин за алгоритмом клітинного циклу разом з графічним представленням фаз  $G_1$ , S і  $G_2/M$  і експериментальними даними.



Кількісні результати циклу клітини :  $G_1$  % – відсоткове співвідношення клітин фази  $G_1$  до всіх клітин клітинного циклу;  $S$  % – відсоткове співвідношення клітин фази  $S$  до всіх клітин клітинного циклу, який використовується як параметр для оцінки регенераційного статусу [436];  $G_2M$  % – відсоткове співвідношення клітин фази  $G_2M$  до всіх клітин клітинного циклу;  $CV$  %  $G_1$  – відносний коефіцієнт варіації піку  $G_1$ ;  $CV$  %  $G_2$  – відносний коефіцієнт варіації піку  $G_2M$ ;  $MnG_2M$  – середнє значення каналу піку  $G_2M$ ;  $MnG_1$  – середнє значення каналу піку  $G_1$ . Також обчислювали індекс проліферації (PI), шляхом додавання  $S$  % та  $G_2M$  %.

Фрагментація ДНК у ядрах тканини печінки експериментальних тварин досліджувалась методом виділення Sub- $G_1$  % (субдиплоїдної) ділянки на ДНК-гістограмах, що були виконані програмними засобами FloMax (фірма Partec, Німеччина). Субдиплоїдна ділянка представлена на гістограмі інтервалом  $RN_1$  (див. рис. 2.4). Оскільки фрагментація ДНК ядер, яку можна виміряти МПЦ, є найважливішою складовою апоптозу [127], то рівень апоптозу клітин печінки оцінювали за даним показником.

Проводилось визначення пікового аналізу, тобто плоїдності ДНК в ядрах клітин тканини печінки за допомогою програмних засобів FloMax (фірма Partec, Німеччина) методом цифрової відповідності з лінійним посиленням. В цифровому методі відповідності математична модель (сума колоколоподібних розподілів Гауса) зіставляється з даними гістограми. В моделі, кожний пік представлений розподілом Гауса із заданим положенням, шириною і висотою. На ДНК-гістограмах аналізували відсотки ядер, що мають різний вміст ДНК, що відображалось піками диплоїдного, тетраплоїдного, октаплоїдного набору ДНК [300, 338, 360]. Результати представлені на гістограмах, де перший пік відповідає диплоїдному (2 с) набору хромосом у ядрі, другий – тетраплоїдному (4 с), третій – октаплоїдному (8 с), четвертий – представляє ядра, що містять 16 наборів хромосом (рис. 2.5).

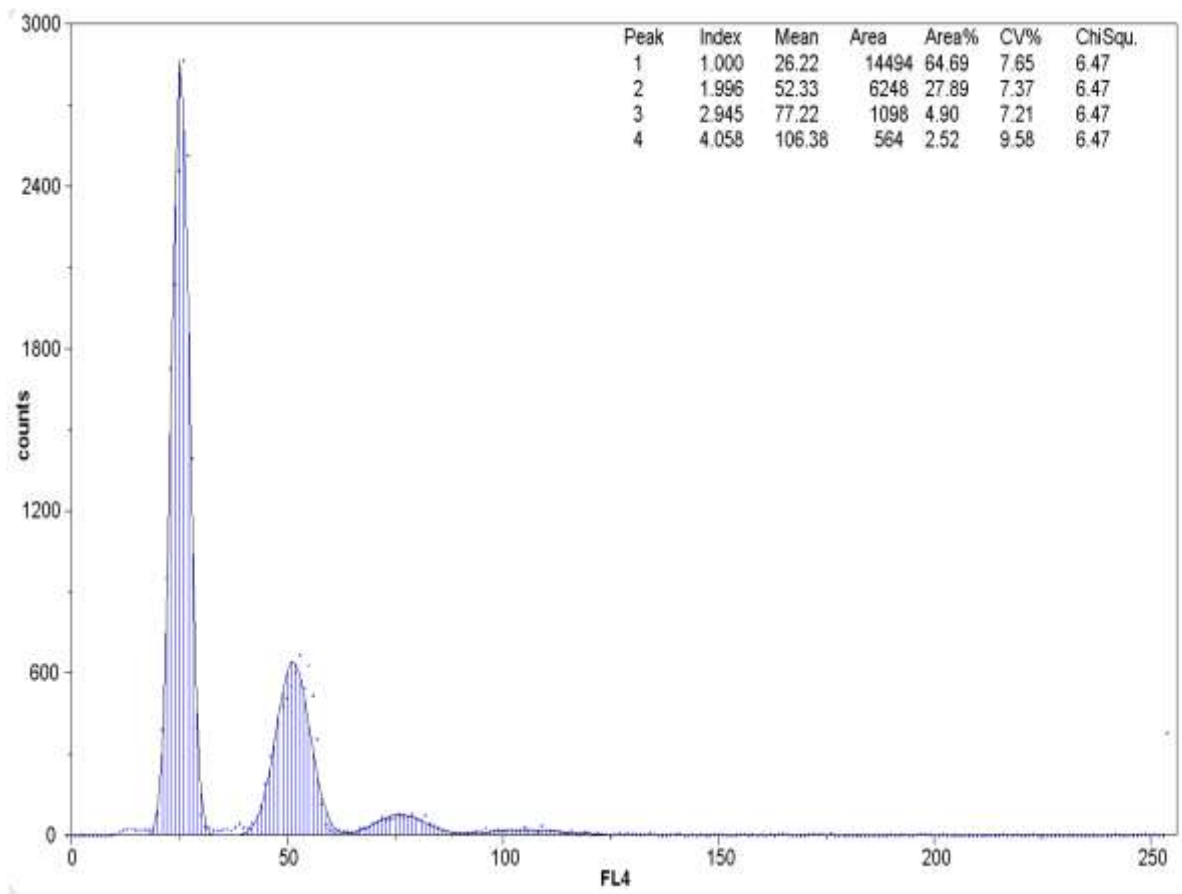


Рис. 2.5. Гістограма, на якій представлена плоїдність набору хромосом в ядрах тканини печінки щура. Цифрові дані (зліва-направо) : Peak – номер піку (1-4); Index – відносне положення піку щодо першого піку (або поперечного каналу); Mean – середнє значення піку в каналі; Area – площа піку (Гауса) - відповідає кількості частинок, що входять до піку; Area % – відсоткове співвідношення площі піку до суми площ піків; CV % – відносний коефіцієнт варіації піку (відносна ширина піку відповідності Гауса); ChiSqu – виміряна варіація між експериментальними даними і відповідною математичною моделлю.

Побудова кривої : цифровий збіг (сума збігів піків); забарвлена зона – піковий збіг; пунктир : експериментальні виміряні дані.

### 2.3. Методи статистичного аналізу

Статистичний аналіз отриманих в ході виконання дисертаційної роботи результатів проведених в пакеті “STATISTICA 5.5” (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний № AXXR910A374605FA) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних.

Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною ознакою, що вивчається, стандартні помилки та відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена.

Результати даного розділу опубліковано у працях [131, 155, 156, 173].

### РОЗДІЛ 3

## ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ КЛІНІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ РІЗНОГО ВІКУ

До основних клінічних симптомів хронічних гепатитів різного генезу відносяться : астеновегетативний, абдомінальний, диспептичний, холестатичний, гепатоспленомегалії, гепатопривний, гіперспленізму, які виражені в різній мірі в залежності від етіології, активності захворювання та його стадії. До основних біохімічних синдромів відносяться: цитолітичний, холестатичний, мезенхімально-запальний (імунозапальний), гепатопривний [143].

У даному розділі проведений патогенетичний аналіз основних клініко-параклінічних показників у 124 дітей, хворих на ХВГ. Із них – 98 дітей перебувало на диспансерному спостереженні при кафедрі дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова на базі Вінницької обласної дитячої клінічної інфекційної лікарні, а також у будинках дитини м. Вінниці та м. Хмельницького, 26 дітей – померлих від ВГ у Вінницькій та Хмельницькій областях. Контрольну групу склало 63 практично здорових дитини.

### **3.1. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей диспансерної групи, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С**

При аналізі клініко-параклінічних даних із медичної документації (карти диспансерного спостереження хворих та історії розвитку дітей з Будинку дитини) 98 дітей, хворих на ХВГ, було встановлено, що 39 (39,8 %) із них мають ХВГ В, 59 (60,2 %) – ХВГ С.

При проведенні аналізу епідеміологічного анамнезу хворих на ХВГ дітей було встановлено, що 23 дитини (23,5 %) були інфіковані вертикальним шляхом від хворої матері, у 20 (20,4 %) дітей виникнення ХВГ пов'язано із проведеними оперативними та іншими парентеральними втручаннями, 16 дітей (16,3%) отримували цільну кров або її препарати (із них 2 дітям після народження проводилось заміне переливання крові), 6 дітей (6,1 %) лікувалися у стоматолога, у решти 33 дітей (33,7 %) – шлях інфікування не був з'ясований.

У переважної кількості хворих, а саме у 67 дітей (68,4 %), інфекційний процес знаходився у ФР вірусу, про що свідчила наявність ДНК HBV чи РНК HCV у крові. Тоді як 31 хворий (31,6 %) був ДНК HBV / РНК HCV-негативним, тобто хронічна HBV-інфекція перебувала у ФІ вірусу, а HCV-інфекція – у ЛС. Слід відмітити, що у більшості хворих як із ХВГ С (72,9 %), так із ХВГ В (61,5 %), діагностувалась ФР вірусу (табл. 3.1).

**3.1.1. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у залежності від фази реплікації вірусу та активності запального процесу.** При аналізі активності запального процесу у печінці, яка встановлювалась за показником АЛТ, у значної кількості хворих (n=52, 53,3 %) було зареєстровано мінімальну активність, оскільки рівень трансаміназ у сироватці крові не перевищував 1,5-2 норм. У 12 дітей (12,2 %) активність запального процесу була низькою, про що свідчило зростання рівня сироваткових трансаміназ від 3 до 5 разів. У 10 осіб (10,2 %) була зареєстрована помірна активність запального процесу, оскільки рівень АЛТ у сироватці крові зростав від 5 до 9 разів. Висока активність (зростання АЛТ понад 9 разів) спостерігалась лише у 7 дітей (7,1 %), тоді як відсутня біохімічна активність (нормальний рівень сироваткових трансаміназ), так звана біохімічна ремісія, була зареєстрована у 17 хворих (17,3 %) (див. табл. 3.1).

*Таблиця 3.1.*

**Залежність фази захворювання та ступеню активності від етіології  
хронічних вірусних гепатитів**

Фаза захворювання:	ХВГ В, n=39		ХВГ С, n=59		Разом, n=98	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Реплікації	24	61,5	43	72,9	67	68,4
Інтеграції / латентна	15	38,5	16	27,1	31	31,6
Активність процесу:						
Мінімальна (A <sub>1</sub> )	23	59,0	29	49,0	52	53,2
Низька (A <sub>2</sub> )	2	5,1	10	17,0	12	12,2
Помірна (A <sub>3</sub> )	4	10,3	6	10,2	10	10,2
Висока (A <sub>4</sub> )	3	7,7	4	6,8	7	7,1
Відсутня (A <sub>0</sub> )	7	17,9	10	17,0	17	17,3

Не встановлено суттєвої відмінності ступеня активності запального процесу від етіології ХВГ. Так при ХВГ В у переважної кількості хворих (59,0 %) реєструвався мінімальний ступень активності, у 5,1 % – низький, у 10,3 % – помірний, у 7,7 % – високий і у 17,9 % випадків біохімічна активність була відсутньою. При ХВГ С також переважав мінімальний ступінь активності (49,0 %), в однакової кількості хворих зареєстрована низька та відсутня активність, що склало по 17,0 %, помірна активність – у 10,2 %, висока – лише у 6,8 % випадків (див. табл. 3.1).

При аналізі клінічної маніфестації ХВГ була встановлена її залежність від фази реплікації вірусу. Так у дітей, хворих на ХВГ, такі клінічні синдроми, як астеновегетативний, диспептичний, абдомінальний та холемії частіше спостерігались у ФР, що склало відповідно 88,1 % ( $p < 0,001$ ), 89,6 % ( $p < 0,001$ ), 95,5 % ( $p < 0,001$ ), 20,9 % ( $p > 0,05$ ), ніж у ФІ/ЛС. Частота геморагічного синдрому не залежала від стадії захворювання і приблизно однаково зустрічалась як при реплікативній фазі (28,4 %), так і при інтегративній (латентній) (29,0 %). Гепатомегалія та особливо гепатоспленомегалія частіше реєструвались у дітей з активною реплікацією вірусу відповідно 23,9 % ( $p < 0,05$ ) та 55,2 % ( $p < 0,01$ ). Слід відмітити, що така ознака як спленомегалія реєструвалась виключно при ФР (13,4 %). При аналізі показників гемограми

також відмічалась їх залежність від фази інфекційного процесу. Так анемія розвивалась у 66 дітей (98,5 %) на тлі ФР проти 17 осіб (54,8 %) – при ФІ/ЛС ( $p < 0,001$ ). Частота розвитку тромбоцитопенії також переважала у дітей із ФР і склала 61,2 % ( $n=66$ ) проти 12,9 % ( $p < 0,001$ ) випадків ( $n=41$ ) у ФІ/ЛС (табл. 3.2). При цьому абсолютна кількість тромбоцитів коливалась від до 380 до  $59 \cdot 10^9/\text{л}$ .

Таблиця 3.2

**Виразність клініко-лабораторних ознак та активності процесу у залежності від фази інфекційного процесу**

Показники	Фаза реплікації, $n=67$		Фаза інтеграції (латентна стадія), $n=31$		p
	абс.	%	абс.	%	
Клініко-параклінічні показники:					
Астеновегетативний	59	88,1	4	12,9	$p < 0,001$
Диспептичний	60	89,6	15	48,4	$p < 0,001$
Холемічний	14	20,9	3	9,7	$p > 0,05$
Абдомінальний	64	95,5	5	16,1	$p < 0,001$
Геморагічний	19	28,4	9	29,0	$p > 0,05$
Гепатомегалія	16	23,9	2	6,5	$p < 0,05$
Спленомегалія	9	13,4	0	0	-
Гепатоспленомегалія	37	55,2	6	19,4	$p < 0,01$
Анемія	66	98,5	17	54,8	$p < 0,001$
Тромбоцитопенія	41	61,2	4	12,9	$p < 0,001$
Активність процесу:					
Мінімальна ( $A_1$ )	33	49,3	19	61,3	$p > 0,05$
Низька ( $A_2$ )	8	11,9	4	12,9	$p > 0,05$
Помірна ( $A_3$ )	9	13,4	1	3,2	$p > 0,05$
Висока ( $A_4$ )	7	10,5	0	0	-
Відсутня ( $A_0$ )	10	14,9	7	22,6	$p > 0,05$

У більшості пацієнтів при біохімічному дослідженні крові визначався нормальний вміст загального білірубіну. У середньому у ФР він становив ( $20,86 \pm 2,17$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), хоча в окремих випадках він сягав 66,35 мкмоль/л, у ФІ/ЛС – ( $15,29 \pm 2,91$ ) мкмоль/л ( $p > 0,05$ ). Слід відмітити, що у більшості хворих як у ФР, так і у ФІ/ЛС реєструвалось незначне зростання

прямої фракції у порівнянні з дітьми контрольної групи – відповідно ( $5,74 \pm 1,28$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) та  $3,15 \pm 0,24$  мкмоль/л ( $p < 0,01$ ). Проте вміст непрямого білірубину був на 41,2 % достовірно вищим у пацієнтів, вірус у яких знаходився у ФР, ніж у тих, у кого реєструвалась ФІ чи ЛС ( $15,76 \pm 1,36$  проти  $11,17 \pm 1,63$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ) (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Виразність лабораторних та біохімічних параметрів у залежності від фази інфекційного процесу**

Показники	Здорові діти, n=63	Фаза реплікації, n=67	Фаза інтеграції (латентна стадія), n=31	p
Томбоцити, $\cdot 10^9$ /л	$315,64 \pm 15,67$	$206,12 \pm 34,51^*$	$237,16 \pm 31,15^*$	$p > 0,05$
Загальний білірубін, мкмоль/л	$14,10 \pm 1,32$	$20,86 \pm 2,17^*$	$15,29 \pm 2,91$	$p > 0,05$
Прямий білірубін, мкмоль/л	$1,21 \pm 0,54$	$5,74 \pm 1,28^*$	$3,15 \pm 0,24^{**}$	$p > 0,05$
Непрямий білірубін, мкмоль/л	$12,98 \pm 1,07$	$15,76 \pm 1,36$	$11,17 \pm 1,63$	$p < 0,05$
АЛТ, У/л	$24,68 \pm 2,12$	$52,43 \pm 3,60^{***}$	$34,78 \pm 2,91^{**}$	$p < 0,01$
КДР	$0,75 \pm 0,03$	$0,89 \pm 0,06$ $\geq 1$ у 43,3 %	$0,59 \pm 0,05^{**}$ $\geq 1$ у 9,7 %	$p < 0,01$
АСТ, У/л	$18,51 \pm 1,71$	$45,75 \pm 3,11^{***}$	$20,05 \pm 2,78$	$p < 0,001$
Тимолова проба, од	$2,19 \pm 0,22$	$4,27 \pm 0,28^{***}$	$2,75 \pm 0,41$	$p < 0,01$
Сулемова проба, од	$2,55 \pm 0,17$	$1,72 \pm 0,14^{***}$	$2,01 \pm 0,12^*$	$p < 0,05$
ЛФ, У/л	$59,6 \pm 3,38$	$205,3 \pm 10,2^{***}$	$164,4 \pm 9,3^{***}$	$p < 0,05$
ГГТП, У/л	$6,54 \pm 0,76$	$18,06 \pm 1,87^{***}$	$13,94 \pm 0,94^{***}$	$p > 0,05$
Холестерол, ммоль/л	$3,90 \pm 0,23$	$4,02 \pm 0,24$	$2,81 \pm 0,19^{***}$	$p < 0,001$
Глюкоза, ммоль/л	$4,52 \pm 0,16$	$4,27 \pm 0,25$	$4,61 \pm 0,34$	$p > 0,05$
Сечовина, ммоль/л	$2,13 \pm 0,21$	$4,98 \pm 0,52^{***}$	$3,07 \pm 0,41$	$p < 0,05$
Креатинін, ммоль/л	$0,039 \pm 0,01$	$0,082 \pm 0,03$	$0,041 \pm 0,01$	$p > 0,05$
$\beta$ -ліпопротеїни, у. од.	$31,32 \pm 0,24$	$40,28 \pm 2,16^{**}$	$32,18 \pm 1,74$	$p < 0,01$
Загальний білок, г/л	$69,2 \pm 4,3$	$67,04 \pm 1,86$	$73,92 \pm 0,65$	$p > 0,05$
А/Г	$1,46 \pm 0,11$	$0,98 \pm 0,11^{**}$	$1,42 \pm 0,14$	$p < 0,05$
Фібриноген, г/л	$3,62 \pm 0,24$	$1,86 \pm 0,19^{***}$	$3,01 \pm 0,12^*$	$p < 0,001$
Протромбіновий індекс, %	$94,86 \pm 0,2$	$73,49 \pm 3,17^{***}$	$86,31 \pm 2,67^{**}$	$p < 0,05$

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ).



Результати біохімічних показників в обстежених дітей засвідчили синдром цитолізу – порушення проникливої здатності мембран гепатоцитів та їхніх органел, що зумовлює виділення складових частин клітини в міжклітинний простір та кров. Так у більшості хворих неодноразово відмічалось підвищення рівня трансаміназ, при цьому середнє значення АЛТ у ФР складало  $(52,43 \pm 3,60)$  U/l ( $p < 0,001$ ), АСТ –  $(45,75 \pm 3,11)$  U/l ( $p < 0,001$ ), тоді як у ФІ/ЛС ці показники були відповідно  $(34,78 \pm 2,91)$  U/l ( $p < 0,01$ ) та  $(20,05 \pm 2,78)$  U/l ( $p > 0,05$ ). Слід відмітити, що активність АЛТ у ФР вірусу достовірно перевищувала таку у ФІ/ЛС на 50,7 %, АСТ – у 2,3 раза (див. табл. 3.3).

Співвідношення активності ферментів АСТ і АЛТ – коефіцієнт де Рітиса (КДР), використовувалося для характеристики патологічного процесу в печінці. При визначенні типу цитолізу гепатоцитів за допомогою обчислення КДР була встановлена його залежність від фази реплікації вірусу. Зокрема у 90,3 % хворих на ХВГ, у яких інфекційний процес знаходився у ФІ/ЛС, відбувався запальний тип цитолізу, оскільки КДР складав  $< 1$ . Тоді як  $\text{КДР} \geq 1$  реєструвався у 43,3 % випадків при ФР та лише у 9,7 % – при ФІ/ЛС, що свідчить про переважання некротичного типу цитолізу над запальним у контингенту хворих із активною реплікацією вірусу. КДР у ФР  $(0,89 \pm 0,06)$  перевищував такий у ФІ/ЛС  $(0,59 \pm 0,05, p < 0,01)$  (див. табл. 3.3).

Слід відмітити більш виразні патологічні зрушення біохімічних показників, які характеризують МЗС та ХС, у ФР вірусу порівняно із такими у ФІ/ЛС. Зокрема, тимолова проба зростала на 55,3 % ( $p < 0,01$ ), сулемова – знижувалась на 14,4 % ( $p < 0,05$ ), активність ЛФ збільшувалась на 24,9 % ( $p < 0,05$ ), ГГТП – на 29,6 % ( $p > 0,05$ ), вміст холестеролу зростав на 43,1 % ( $p < 0,001$ ),  $\beta$ -ліпопротеїнів – на 25,2 % ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 3.3).

Синдром печінково-клітинної недостатності зумовлений зниженням синтетичної, метаболічної та дезінтоксикаційної функції, характеризувався диспротеїнемією у пацієнтів з ФР, оскільки співвідношення альбумінів і глобулінів достовірно знижувалось на 31,0 %  $(0,98 \pm 0,11)$  у порівнянні з таким у

ФІ/ЛС ( $1,42 \pm 0,14$ ,  $p < 0,05$ ); збільшенням кількості сечовини на 62,2 % ( $p < 0,05$  порівняно з ФІ/ЛС), а також змінами показників коагулограми: знижувалась кількість фібриногену на 38,2 % ( $p < 0,001$ ) та протромбіновий індекс на 14,9 % ( $p < 0,05$ ), що засвідчує зменшення кількості функціонально повноцінних гепатоцитів у пацієнтів з активною реплікацією вірусів (див. табл. 3.3). Кількість загального білку не зменшувалась, а в окремих випадках мала тенденцію до збільшення, що обумовлено, на наш погляд, гіпергамаглобулінемією, яка відображає МЗС. У багатьох хворих розвивалась незначна гіпоглікемія, яка пов'язана із порушенням глікогенсинтезуючої функції печінки і зменшенням запасів глікогену.

**3.1.2. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у віковому аспекті.** Провівши патогенетичний аналіз виразності основних клінічних та параклінічних показників у дітей із ХВГ залежно від фази реплікації вірусу та ступеня активності запального процесу ми з'ясували вікові особливості клінічного перебігу ХВГ у дітей.

Так у дітей першої вікової групи, до якої увійшло 10 дітей, віком від 8 місяців до одного року, етіологічним чинником ХВГ з однаковою частотою був HBV ( $n=5$ , 50,0 %) та HCV ( $n=5$ , 50,0 %). Дані епідеміологічного анамнезу у всіх обстежених вказували на перинатальний (вертикальний) шлях інфікування від хворої чи інфікованої матері.

Слід відмітити, що на підставі проведеної ПЛР, у всіх дітей першого року життя ( $n=10$ ; 100 %) як хворих на ХВГ В, так і ХВГ С, діагностовано ФР вірусу. При аналізі активності запального процесу було встановлено, що зростання рівня АЛТ у сироватці крові у 1,5-2 рази зареєстровано у 2 дітей (20,0 %). Тоді як у половини обстежених хворих даного віку ( $n=5$ , 50,0 %) реєструвалось зростання активності сироваткових трансаміназ від 3 до 5 разів. У 3 осіб (30,0 %) активність АЛТ у сироватці крові зростала у 6-9 разів. Слід відмітити, що у жодної хворої дитини віком до одного року не спостерігалось високої

активності процесу (понад 9 норм), як і не було пацієнтів з нормальним рівнем сироваткових трансаміназ (табл. 3.4).

При аналізі особливостей клінічної симптоматики у дітей першого року життя встановлено, що найбільш типовим синдромом для більшості із обстеженого контингенту хворих був диспептичний, який мав місце у 8 дітей (80,0 %), у 2 дітей (20,0 %) були ознаки абдомінального синдрому. Дані синдроми у дітей грудного віку проявлялися зниженим апетитом, зригуванням чи блюванням, порушенням зі сторони випорожнень (діарея чи запор), метеоризмом. У більшості хворих розвивалась гепатомегалія (n=3, 30,0 %) чи гепатоспленомегалія (n=3, 30,0 %), що свідчить про наявність запалення і гемодинамічних розладів у даних органах (див. табл. 3.4).

Із лабораторних знахідок при дослідженні периферичної крові у дітей першого року життя звертає увагу анемія, яка реєструвалась у 100% випадків, рідше – (n=2; 20,0 %) (див. табл. 3.4) спостерігалась незначна тромбоцитопенія (до  $132 \cdot 10^9/\text{л}$ ), тому ознак геморагічного синдрому у дітей першої вікової групи не спостерігалось.

При аналізі даних біохімічного дослідження крові у дітей першої вікової групи встановлено, що порушення пігментного обміну були помірно виразними. Так на тлі незначного збільшення вмісту загального білірубіну ( $18,87 \pm 2,98$ ) мкмоль/л ( $p > 0,05$ ), спостерігалось достовірне підвищення рівня прямої фракції у 3,7 раза ( $4,49 \pm 1,87$  проти  $1,21 \pm 0,54$  мкмоль/л;  $p < 0,05$ ). При цьому вміст непрямого білірубіну практично не змінювався ( $p > 0,05$ ) (табл. 3.5). Тобто, у дітей першого року життя на тлі нормального захоплення і кон'югації непрямого білірубіну в гепатоцитах, спостерігалось порушення екскреції прямого білірубіну із жовчю, очевидно, внаслідок розвитку внутрішньопечінкового холестазу, спричиненого запаленням тканини печінки.

Таблиця 3.4

## Вікові особливості клініко-параклінічних симптомів у дітей із ХВГ

Показники	1 група (до 1 року) n=10		2 група (від 1 до 4 років), n=16		3 група (від 4 до 7 років), n=10		4 група (від 7 до 12 років), n=18		5 група (від 12 до 18 років), n=44		Загалом n=98	
1	2		3		4		5		6		7	
Дані діагнозу:												
ХВГВ	5	50,0 %	6	37,5 %	2	20,0 %	9	50,0 %	17	38,6 %	39	39,8 %
ХВГС	5	50,0 %	10	62,5 %	8	80,0 %	9	50,0 %	27	61,4 %	59	60,2 %
ФР	10	100 %	12	75,0 %	5	50,0 % p1,3<0,05	13	72,2 %	28	63,6 % p1,5<0,05	68	69,4 %
ФІ/ЛС	0	0 %	4	25,0 %	5	50,0 %	5	27,8 %	16	36,4 %	30	30,6 %
Активність процесу:												
Мінімальна (А1)	2	20,0 %	12	75,0 % p1,2<0,05	4	40,0 %	12	66,7 % p1,4<0,05	22	50,0 %	52	53,2 %
Низька (А2)	5	50,0 %	2	12,5 % p1,2<0,05	1	10,0 %	2	11,1 % p1,4<0,05	2	4,5 % p1,5<0,001	12	12,2 %
Помірна (А3)	3	30,0 %	2	12,5 %	0	0 %	1	5,55 %	4	9,1 %	10	10,2 %
Висока (А4)	0	0 %	0	0 %	2	20,0 %	1	5,55 %	4	9,1 %	7	7,1 %

Відсутня (A0)	0	0 %	0	0 %	3	30,0 %	2	11,1 %	12	27,3 %	17	17,3 %
Епіданамнез:												
Перинатальне інфікування	10	100 %	8	50,0 % p1,2<0,0 5	2	20,0 % p1,3<0,0 1	2	11,1 % p1,4<0,0 01 p2,4<0,0 5	1	2,3 % p1,5<0,0 01 p2,5<0,0 01	23	23,5 %
Оперативні втручання в анамнезі	0	0 %	2	12,5 %	1	10,0 %	6	33,3 %	11	25,0 %	20	20,4 %
Введення препаратів крові	0	0 %	3	18,75 %	1	10,0 %	3	16,7 %	9	20,5 %	16	16,3 %
Лікування у стоматолога	0	0 %	0	0 %	1	10,0 %	1	5,6 %	4	9,2 %	6	6,1 %
Невідомий	0	0 %	3	18,75 %	5	50,0 %	6	33,3 %	19	43,0 % p2,5<0,0 5 p3,5<0,0 1 p4,5<0,0 01	33	33,7 %

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5	6	7						
Клінічні симптоми:												
Астановегетативний	-	-	8	50,0 %	10	100 % p2,4<0,0 5	14	77,8 %	31	70,5 %	63	64,3 %
Диспептичний	8	80,0 %	16	100 % p2,5<0,0 5	7	70,0 % p2,3<0,0 5	12	66,7 % p2,4<0,0 5	32	72,7 %	75	76,5 %
Холемічний	0	0 %	0	0 %	0	0 %	3	16,7 %	14	31,8 %	17	17,3 %

Абдомінальний	2	20,0 %	9	56,25 % p2,5<0,01	7	70,0 % p1,3<0,05	12	66,7 % p1,4<0,05	39	88,6 % p1,5<0,001 p4,5<0,05	69	70,4 %
Геморагічний	0	0 %	2	12,5 %	4	40,0 %	8	44,4 %	18	40,9 % p2,5<0,05	28	28,6 %
Гепатомегалія	3	30,0 %	1	6,25 %	2	20,0 %	6	33,3 %	6	13,6 %	18	18,4 %
Спленомегалія	0	0 %	0	0 %	0	0 %	4	22,2 %	5	11,4 %	9	9,2 %
Гепатоспленомегалія	3	30,0 %	13	81,25 % p1,2<0,05	3	30,0 % p2,4<0,05	6	33,3 % p2,4<0,01	18	40,9 % p2,5<0,01	43	43,9 %
Лабораторні дані:												
Анемія	10	100 %	18	100 % P2,5<0,05	8	80,0 %	16	88,9 %	31	70,5 % p1,5<0,001	83	84,7 %
Тромбоцитопенія	2	20,0 %	2	12,5 % p2,5<0,01	6	60,0 % p2,3<0,05	9	50,0 % p2,4<0,05	26	59,1 % p1,5<0,05	45	45,9 %

Таблиця 3.5

**Характеристика біохімічних показників у хворих на хронічні вірусні  
гепатити В і С дітей різного віку**

Біохімічні показники	Здорові діти, n=63	1 група (до 1 року n=10)	2 група (від 1 до 4 років) n=16	3 група (від 4 до 7 років) n=10	4 група (від 7 до 12 років) n=18	5 група (від 12 до 18 років) n=44
1	2	3	4	5	6	7
Загальний білірубін, мкмоль/л	14,10±1,32	18,87±2,98	20,91±2,77*	13,31±1,56	20,13±2,43*	20,05±1,72*
Прямий білірубін, мкмоль/л	1,21±0,54	4,49±1,87*	3,55±0,78	3,95±0,32*	5,17±1,30*	6,18±0,80**
Непрямий білірубін, мкмоль/л	12,98±1,07	13,58±2,04	16,88±2,30	9,39±0,99 p2,3<0,05	14,93±1,85 p3,4<0,05	13,27±1,02
АЛТ, У/л	24,68±2,12	39,58±1,82***	37,53±3,21***	39,58±2,12***	48,61±1,96*** p1,4<0,01 p2,4<0,01 p3,4<0,05	48,74±2,18*** p1,4<0,01 p2,4<0,01 p3,4<0,05
АСТ, У/л	18,51±1,71	36,22±2,08***	24,68±2,94	29,16±1,82**	35,55±2,15*** p2,4<0,01	45,24±2,29*** p2,5<0,001 p3,5<0,01 p4,5<0,05
КДР	0,75±0,03	0,91±0,12 ≥1 у 40,0 %	0,64±0,06 ≥1 у 12,5 %	0,76±0,13 ≥1 у 30,0 %	0,73±0,08 ≥1 у 16,7 %	0,95±0,08* ≥1 у 45,5 %
Тимолова проба, од	2,19±0,22	3,35±0,68* ↑ у 40 %	3,28±0,37* * ↑ у 43,75 %	2,93±0,56 ↑ у 20,0 %	3,61±0,15* ** ↑ у 44,4 %	4,38±0,32* ** ↑ у 54,5 %
Сулемова проба, од	2,55±0,17	1,9±0,24 ↓ у 50,0 %	1,89±0,21* ↓ у 25,0 %	1,80±0,17* ↓ у 25,0 %	1,86±0,05* * ↓ у 61,1 %	1,84±0,04* ** ↓ у 56,8 %
Лужна фосфатаза, У/л	59,6±3,38	157,7±12,1***	164,4±11,3***	172,5±8,1**	181,3±9,6**	245,7±8,9* ** p1,5<0,001 p2,5<0,001 p3,5<0,001

							p4,5<0,001
ГГТП, У/л	6,54±0,76	12,26±0,78 ***	15,59±1,64 ***	14,29±2,36 ***	19,17±1,76 ***	23,07±2,05 ***	p1,4<0,01 p1,5<0,001 p2,5<0,05
Холестерол, ммоль/л	3,90±0,23	4,82±0,31*	3,74±0,28	3,59±0,19	3,04±0,21* p1,4<0,001 p2,4=0,051	4,55±0,14* p4,5<0,001 p3,5<0,01	
Глюкоза, ммоль/л	4,52±0,16	3,91±0,20	4,98±0,32	4,51±0,14	4,18±0,24	3,8±0,17** p2,5<0,001	
Сечовина, ммоль/л	2,13±0,21	2,54±0,33	6,17±0,29* ** p1,2<0,001	3,65±0,41* * p2,3<0,001	3,76±0,58* * p2,4<0,01	4,33±0,56* *	
Креатинін, ммоль/л	0,039±0,01	0,050±0,02	0,077±0,02	0,039±0,02	0,071±0,01 *	0,040±0,01	



Продовж. табл. 3.5

1	2	3	4	5	6	7
β-ліпопротеїни, у. од.	31,32±0,24	25,45±2,80 ***	41,27±1,73 ***	37,09±2,22 ***	39,13±1,96 ***	42,17±3,48 ***
			p1,2<0,001			p1,5<0,001
Загальний білок, г/л	69,2±4,3	72,23±1,61	71,72±1,17	66,95±1,80 p1,3<0,05	71,75±1,44	68,15±0,99
А/Г	1,54±0,08	0,92±0,13* **	1,31±0,07	1,23±0,14	1,42±0,11 p1,4<0,01	1,26±0,12
Фібриноген, г/л	3,62±0,24	2,18±0,11* *	2,78±0,19*	3,24±0,14 p1,3<0,001	2,03±0,20* ** p2,4<0,05 p3,4<0,001	1,82±0,21* ** p2,5<0,05 p3,5<0,001
Протромбін-новий індекс, %	94,86±0,2	73,1±2,22* **	89,6±2,17* *	75,7±4,02* **	88,4±1,65* **	71,25±5,3* **
			p1,2<0,001	p2,3<0,001	p1,4<0,001 p3,4<0,01	p4,5<0,001

Зростала активність сироваткових трансаміназ, що свідчило про наявність ЦС. Зокрема активність АЛТ, яка є сироватковим маркером активності запального процесу у печінці, у дітей, віком від 8 місяців до 1 року, підвищувалась у 1,6 раза ( $p<0,001$ ), показник АСТ зростав у 2 рази ( $p<0,001$ ). При обчисленні КДР встановлено, що даний показник у 40,0 % випадків був  $\geq 1$ , що вказує на наявність у даного контингенту хворих некротичного типу цитолізу. Середнє значення даного показника становило  $0,91\pm 0,12$  ( $p>0,05$ ) (див. табл. 3.5).

При дослідженні осадочних реакцій, таких як тимолова та сулемова проби, які є індикаторами МЗС, зареєстровано, що більш суттєвих змін зазнала саме тимолова проба (збільшувалась у 40 % випадків), показник якої достовірно зростав у 1,5 раза ( $p<0,05$ ) (див. табл. 3.5). Порушення зі сторони осадочних реакцій підтверджує наявність запального процесу у печінці.

При визначенні маркерів ХС, а саме: ЛФ, ГГТП, було встановлено суттєве їх зростання у порівнянні зі здоровими дітьми. Так активність ЛФ зростала у 2,65 раза ( $p<0,001$ ), ГГТП – у 2 рази ( $p<0,001$ ). Спостерігалися деякі зміни у ліпідному спектрі плазми крові, зокрема збільшення вмісту

холестеролу на 23,6 % ( $p < 0,05$ ), що є ознакою холестазу. Проте вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів у дітей першого року життя не збільшувався, а навпаки, зменшувався на 18,7 % ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 3.5), що може вказувати на первинне порушення жирового обміну у даного контингенту хворих, можливо пов'язане із функціональною незрілістю печінки.

Реєструвалась тенденція до гіпоглікемії, оскільки кількість глюкози зменшувалась до  $(3,91 \pm 0,20)$  ммоль/л ( $p = 0,05$ ) (див. табл. 3.5), що може вказувати на розлади глікогенсинтезуючої функції гепатоцитів.

Білоксинтезуюча функція печінки у дітей грудного віку зазнала неоднозначних змін, оскільки вміст загального білку у плазмі крові не змінювався  $(72,23 \pm 1,61)$  г/л ( $p > 0,05$ ), що, на нашу думку, пов'язано із збільшенням синтезу  $\gamma$ -глобулінів і підтверджується значним зниженням А/Г коефіцієнту до  $(0,92 \pm 0,13; p < 0,001)$ . Розвиток гепатопричного синдрому підтверджується також достовірним зменшенням кількості фібриногену у 1,7 раза, а також зниженням протромбінового індексу до  $(73,1 \pm 2,22)$  % ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 3.5).

Таким чином, у дітей першого року життя з однаковою частотою діагностувався ХВГ В та ХВГ С, переважала ФР, оскільки 90,0 % дітей були ДНК/РНК-позитивними. Усі хворі діти цього віку були інфіковані перинатальним шляхом із наступним розвитком у них первинно-хронічного перебігу захворювання. У половини обстежених захворювання характеризувалось низькою активністю запального процесу у печінці, у третини – помірною. Клінічний перебіг ХВГ характеризувався диспептичним синдромом, анемією, біохімічними ознаками синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення та печінково-клітинної недостатності. На наявність ЦС вказували такі біохімічні маркери, як: зростання активності АЛТ та ГГТП. Свідченням ХС було підвищення активності ЛФ, ГГТП, вмісту прямого білірубіну та холестеролу. МЗС проявлявся зростання осадочних реакцій, гепатопричний – зменшенням А/Г коефіцієнту, кількості фібриногену та протромбінового індексу.

Серед дітей другої вікової групи, віком від 1 до 4 років, шестеро (37,5 %) мали ХВГ В, 10 осіб (62,5 %) перебувало на диспансерному спостереженні з приводу ХВГ С. Із 16 хворих даної групи переважна більшість (n=12, 75,0 %) були ДНК/РНК-позитивними, що засвідчує активну реплікацію вірусів. Менша кількість хворих (n=4, 25,0 %) були ДНК/РНК-негативними, тобто HBV вірус перебував у фазі інтеграції, а HCV – у латентній стадії. Незважаючи на те, що у більшості хворих вірус знаходився у ФР, високої активності запального процесу не розвивалось у жодного хворого. Переважала мінімальна активність запалення у тканині печінки, що склало 75,0 % випадків. Низька та помірна активність розвивалась в однакової кількості пацієнтів (n=2, 12,56 %) (див. табл.3.4). Тобто, незважаючи на присутність вірусів у крові, активність запального процесу у дітей даної вікової групи була невисокою, що характерно для «повільних, млявих» інфекцій, до яких відноситься ХВГ В та ХВГ С.

Дані епідеміологічного анамнезу вказують на те, що перинатальне інфікування HBV чи HCV відбулося у половини дітей (n=8, 50,0 %), у 3 дітей (18,75 %) захворювання може бути пов'язано із введенням препаратів крові протягом першого року життя, оперативні втручання, як імовірний шлях передачі вірусів парентеральних гепатитів, здійснювалися у 2 дітей (12,5 %), у 3 дітей (18,75%) – шлях інфікування з'ясувати не вдалося (див. табл.3.4).

Клінічна симптоматика ХВГ була представлена диспептичним синдромом у 100 % випадків, абдомінальним (періодичний чи постійний черевний біль) – у 56,2 % та астеновегетативним (немотивована кволість, емоційна лабільність, підвищена втомлюваність, порушення сну) – у половини пацієнтів. Слід відмітити, що у жодного хворого не спостерігались клінічні ознаки холемічного синдрому, тому хворі тривалий час лікувались у гастроентеролога з приводу патології травної системи. Серед об'єктивних проявів ХВГ найбільш специфічним було збільшення печінки та селезінки у 13 хворих (81,25 %), як проявів запального процесу та внутрішньопечінкових

гемодинамічних розладів. Гепатомегалія розвивалась в одного хворого (6,25 %) (див. табл. 3.4).

При дослідженні периферичної крові анемію діагностовано у всіх хворих даного віку, зменшення кількості тромбоцитів – у 2 дітей, що склало 12,5 % випадків (див. табл. 3.4). Слід відмітити, що у однієї дитини кількість тромбоцитів зменшувалась до  $59 \cdot 10^9/\text{л}$ , що клінічно проявлялось геморагічним синдромом.

У дітей переддошкільного віку збільшувалась кількість як загального білірубіну ( $20,91 \pm 2,77$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), так і його фракцій: прямого – до ( $3,55 \pm 0,78$ ) мкмоль/л ( $p > 0,05$ ), непрямого – до ( $16,88 \pm 2,30$ ) мкмоль/л ( $p > 0,05$ ). Встановлена достовірна зміна осадочних реакцій: тимолова проба зростала у 43,75 % випадків у 1,5 раза ( $p < 0,01$ ), сулемова – знижувалась у 25,0 % у 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). Активність печінкових ферментів у плазмі крові значно зростала, що презентує наявність холестатичного та цитолітичного синдромів. При аналізі трансаміназної активності сироватки крові встановлено достовірне зростання АЛТ у 1,5 раза,  $p < 0,001$ ). Це відобразилось на КДР, який у пацієнтів даної групи становив ( $0,64 \pm 0,06$ ), і був  $\geq 1$  лише у 12,5 % випадків (див. табл. 3.5).

Активність ЛФ склала ( $164,4 \pm 11,3$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), ГГПТ – ( $15,59 \pm 1,64$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), що у 2,76 та у 2,38 раза відповідно перевищувало нормальні показники. Порушення жирового обміну у печінці проявилось достовірним зростанням рівня  $\beta$ -ліпопротеїнів у 1,3 раза ( $p < 0,001$ ), при цьому кількість холестеролу не зазнала жодних змін у хворих даної вікової групи. Проте спостерігалось порушення дезінтоксикаційної функції печінки, оскільки вміст сечовини збільшувався майже у 3 рази, що склало ( $6,17 \pm 0,29$ ) ммоль/л ( $p < 0,001$ ), також спостерігалась тенденція до збільшення кількості креатиніну у 2 рази (див. табл. 3.5).

Порушення білоксинтезуючої функції печінки проявилось зниженням вмісту фібриногену ( $2,78 \pm 0,19$ ) г/л ( $p < 0,05$ ), протромбінового індексу

(89,6±2,17) % ( $p < 0,001$ ), а також тенденцією до зниження А/Г коефіцієнту, що склало 1,31±0,07 ( $p = 0,064$ ) (див. табл.3.5).

Отже, діти переддошкільного віку (від 1 до 4 років), які у половині випадків були інфіковані перинатально, на диспансерному спостереженні перебували частіше з приводу ХВГ С (62,5 %), рідше – ХВГ В (37,5 %), у 75,0% діагностовано ФР вірусу. У дітей даного віку на першому місці домінують клінічні прояви диспептичного синдрому, біохімічні - холестатичного, оскільки такі показники, як: активність ЛФ, ГГТП, рівень  $\beta$ -ліпопротеїнів зазнали суттєвих змін. Менш виразними були гепатопривний та цитолітичний синдроми.

У дітей третьої вікової групи, віком від 4 до 7 років, переважав ХВГ С (80,0 %), лише 20 % перебували на диспансерному спостереженні з приводу ХВГ В. Характерною особливістю ХВГ у дітей дошкільного віку було зменшення кількості ДНК/РНК-позитивних (до 50 %) та збільшення кількості ДНК/РНК-негативних дітей (5 осіб, що склало 50,0 %) (див. табл. 3.4). Це може бути пов'язано із тим, що у дітей, які були інфіковані HBV чи HCV перинатально, чи протягом перших років життя, розвивався первинно-хронічний перебіг HBV- чи HCV-інфекції, з наступним переходом реплікативної фази в інтегративну (латентну). Тобто, зі збільшенням тривалості захворювання зростає достовірність інтеграції ДНК HBV у геном гепатоцитів, а також перехід HCV-інфекції у неактивну латентну стадію.

При аналізі даних епідеміологічного дослідження встановлено, що ймовірний шлях інфікування було з'ясовано лише в поодиноких випадках. Так кількість інфікованих дітей вертикальним шляхом становила 2 осіб (20,0 % випадків), в однієї дитини (10 %) в анамнезі було оперативне втручання, або введення препаратів крові ( $n=1$ ; 10 %), в іншій – лікування у стоматолога ( $n=1$ , 10,0 %). Слід відмітити, що у половини із обстежених дітей шлях інфікування не був з'ясований (див. табл. 3.4).

У більшості обстежених дітей даної вікової групи трансаміназна активність сироватки крові була невисокою. Так у 4 дітей (40,0 %) активність

АЛТ не перевищувала 1,5-2 норм, що відповідає мінімальній активності запального процесу. У 3 дітей (30,0 %) характерною особливістю була відсутність зростання активності трансаміназ, так звана біохімічна ремісія. Разом з тим, на відміну від попередніх вікових груп, було зареєстровано зростання активності АЛТ більше ніж у 9 разів, що засвідчує високий ступінь запального процесу при ХВГ В і С (див. табл. 3.4).

Характеризуючи клінічну симптоматику ХВГ у дітей третьої вікової групи можна відмітити велику кількість скарг на астеновегетативний (100 %), диспептичний та абдомінальний синдроми (70,0 %). На нашу думку, з одного боку це може бути пов'язано із особливостями клінічного перебігу ХВГ, з іншого – діти дошкільного віку, на відміну від дітей грудного і переддошкільного віку, можуть самостійно і достатньо чітко формулювати і висловлювати скарги (наприклад, слабкість, головний біль, зниження апетиту, нудота, блювання, печія, гіркота в роті, здуття живота, черевний біль після прийому їжі чи фізичного навантаження, тощо), що підтверджує наявність у них даних симптомів і синдромів. У 4 дітей (40,0 %) були скарги на періодичні безпричинні носові кровотечі, що доводить наявність геморагічного синдрому (див. табл. 3.4).

У половини пацієнтів даного віку методами об'єктивного чи ультразвукового дослідження, зареєстровано збільшення печінки та селезінки. Для дітей, віком від 4 до 7 років, є характерним гіперспленізм, оскільки поряд з анемією, яка лабораторно підтверджувалась у 80,0 % хворих, у 60,0 % випадків задокументована тромбоцитопенія (див. табл. 3.4), при цьому кількість тромбоцитів у периферичній крові у двох дітей складала  $62-64 \cdot 10^9/\text{л}$ , що спричинило розвиток у даних хворих геморагічного синдрому.

При аналізі результатів біохімічного дослідження крові хворих дітей даного віку було встановлено збільшення вмісту прямого білірубіну до  $3,95 \pm 0,32$  ( $p < 0,01$ ), що вказує на наявність холемії. Активність АЛТ та АСТ, які є маркерами ЦС, зростала у 1,6 ( $p < 0,001$  та  $p < 0,01$  відповідно). КДР у

хворих даної вікової групи  $\geq 1$  у 30,0 % пацієнтів, в середньому склав  $(0,76 \pm 0,13)$ . Тимолова проба зростала у 20,0 % випадків ( $p > 0,05$ ). Паралельно відбувалось достовірне зниження сулемової проби у 25,0 % випадків у 1,4 раза ( $p < 0,05$ ).

Як і у дітей двох попередніх вікових груп, зареєстровано значне зростання (майже у 3 рази) активності ЛФ та ГГТП, яка становила відповідно  $(172,5 \pm 8,1)$  У/л ( $p < 0,001$ ) та  $14,29 \pm 2,36$  У/л ( $p < 0,001$ ), що є ознакою ХС. Відбувалось порушення ліпідного спектру крові у вигляді збільшення вмісту  $\beta$ -ліпопротеїнів –  $(37,09 \pm 2,22)$  у. од. ( $p < 0,001$ ), а також дезінтоксикаційної функції печінки – у 1,5 раза збільшувався вміст сечовини ( $p < 0,01$ ). Гепатопривний синдром проявлявся суттєвим зниженням синтезу прокоагулянтів у печінці, поза як протромбіновий індекс склав  $(75,7 \pm 4,02)$  % ( $p < 0,001$ ). Також відмічалась тенденція до зниження А/Г коефіцієнту  $(1,23 \pm 0,14; p = 0,061)$  (див. табл. 3.5).

Отже, характерними особливостями клінічного перебігу ХВГ у дітей дошкільного віку (від 4 до 7 років) було збільшення відсотку ДНК/РНК-негативних дітей, у переважної більшості активність запального процесу була мінімальною чи відсутньою, проте у ряді випадків – високою. Шлях інфікування у половини хворих невідомий. Клінічна картина характеризується наявністю астеновегетативного, диспептичного та абдомінального синдромів, гепатоспленомегалії та гіперспленізму. Біохімічними знахідками є виражений холемічний синдром, свідченням якого є гіпербілірубінемія за рахунок прямої фракції, збільшення активності ЛФ, ГГТП. Менш виразними є індикатори гепатопривного, цитолітичного та мезенхімально-запального синдромів.

У дітей четвертої вікової групи, віком від 7 до 12 років, однаково часто зареєстрований як ХВГ В ( $n=9, 50,0$  %), так і ХВГ С ( $n=9, 50,0$  %). Проте, на відміну від попередньої вікової групи, збільшувалася частка ДНК/РНК-позитивних дітей, що свідчило про активну реплікацію вірусу гепатиту В та настання реактивації HCV-інфекції. Так ФР діагностовано у 13 осіб (72,2 %),

ФІ HBV-інфекції та латентну стадію HCV-інфекції - лише у 5 осіб (27,8 %) (див. табл. 3.4).

Дані епідеміологічного анамнезу вказують на те, що найчастішим шляхом інфікування були парентеральні маніпуляції (55,6 %), зокрема оперативні втручання (33,3 %), введення препаратів крові (16,7 %), лікування у стоматолога (5,5 %). У 11,1 % інфікування відбулося ще перинатально, тобто тривалість захворювання у даних пацієнтів перевищує 7 років. У шести пацієнтів (33,3 %) не вдалося з'ясувати імовірний шлях інфікування (див. табл. 3.4).

Частіше захворювання перебігало на тлі мінімальної активності запального процесу (n=12; 66,7 %), значно рідше – на тлі низької (n=2; 11,1 %) чи, взагалі, відсутньої біохімічної активності (n=2; 11,1 %). У поодиноких випадках активність процесу, за рівнем зростання активності трансаміназ, розцінювалась як помірна (n=1; 5,55 %) чи висока (n=5,55 %) (див. табл. 3.4).

Скарги, що свідчили про наявність астеновегетативного синдрому, задокументовані у 14 дітей даної вікової групи, що склало 77,8 % випадків. У значної частини пацієнтів (66,7 %) спостерігався диспептичний та абдомінальний синдроми. Слід відмітити, що у 3 із 18 дітей молодшого шкільного віку (16,7 %), на відміну від пацієнтів молодших вікових груп, спостерігались клінічні ознаки ХС (іктеричність склер та шкіри). Також у 8 дітей (44,4 %) характерною була наявність клінічних ознак геморагічного синдрому, що лабораторно підтверджувалось тромбоцитопенією у 9 (50,0 %) дітей. У 16 осіб (88,9 %) встановлено зменшення кількості еритроцитів та гемоглобіну в периферичній крові, що може бути спричинено частими кровотечами, а також порушенням еритропоезу. В усіх дітей, віком від 7 до 12 років, відбувалося збільшення печінки і /або селезінки (див. табл. 3.4).

Біохімічні дослідження показали наявність типових ознак ХС, а саме: збільшення кількості як загального ( $20,13 \pm 2,43$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), так і прямого білірубіну ( $5,17 \pm 1,30$ ) мкмоль/л ( $p < 0,01$ ) у сироватці крові,



підвищення активності ЛФ у 3 рази ( $181,3 \pm 9,6$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), ГГТП – у 2,9 рази ( $19,17 \pm 1,76$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), а також кількості  $\beta$ -ліпопротеїнів до ( $39,13 \pm 1,96$ ) у. од. ( $p < 0,001$ ). У дітей даної групи, на відміну від молодших дітей, були яскраво вираженими ознаки ЦС. Так активність АЛТ і АСТ в середньому зростала у 2 рази, що склало ( $48,61 \pm 1,96$ ) U/l ( $p < 0,001$ ) та ( $35,55 \pm 2,15$ ) U/l ( $p < 0,001$ ) відповідно. Для оцінки характеру ушкодження гепатоцитів був підрахований КДР, який у дітей даної вікової групи склав  $0,73 \pm 0,08$ , що свідчило про переважання запального типу цитолізу, лише у 16,7 % випадків даний показник був  $\geq 1$  (див. табл. 3.5).

Значне зростання осадочних проб свідчило про наростання МЗС майже у половини хворих. Так тимолова проба зростала у 44,4 % випадків у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ), а сулемова – достовірно знижувалась у 61,1 % у 1,4 рази ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 3.5).

Гепатопривний синдром проявлявся порушенням метаболізму сечовини і креатиніну, а також суттєвим зменшенням вмісту основних прокоагулянтів. Зокрема кількість фібриногену знижувалась у 1,8 рази ( $p < 0,001$ ), протромбіновий індекс – до ( $88,4 \pm 1,65$ ) % ( $p < 0,001$ ). Наведені дані, як і тромбоцитопенія, пояснюють розвиток геморагічного синдрому, що розвивався у 44,4 % випадків (див. табл. 3.5).

Таким чином, характерною особливістю клініко-параклінічних показників при ХВГ у дітей молодшого шкільного віку, віком від 7 до 12 років, є більш часте інфікування вірусом гепатиту С, переважання ДНК/РНК-позитивних дітей, мінімальна або відсутня активність запального процесу. На тлі домінування астеновегетативного, диспептичного та абдомінального синдромів, зустрічаються діти з клінічними ознаками холемії. В усіх дітей розвивається гепато-і/або спленомегалія, із ознаками гіперспленізму. Біохімічні показники засвідчують більш суттєві порушення функції печінки, що розвиваються на тлі виразного цитолітичного, холестатичного, мезенхімально-запального та гепатопривного синдромів.

У дітей найстаршої вікової групи, віком від 12 до 18 років, тобто у підлітків, частіше діагностувався ХВГ С (61,4 %), ніж ХВГ В (38,6 %). У даній групі, як і у дітей молодшого шкільного віку, переважала ФР (63,6 %), у решти – 36,4 % випадків ДНК/РНК вірусів гепатиту В/С була відсутньою (див. табл. 3.4). Можливо, збільшення кількості ДНК/РНК-позитивних дітей підліткового віку пов'язано зі збільшенням ризику інфікування, тобто імовірних шляхів зараження HBV чи HCV–інфекцією, зокрема, пірсинг, ранні незахищені статеві контакти, лікування у стоматолога, тощо.

Не дивлячись на великий відсоток ДНК/РНК-позитивних дітей, характерною ознакою перебігу ХВГ у дітей підліткового віку є мінімальна або відсутня активність запального процесу, що зареєстровані у 50,0 % та 27,3% випадків відповідно. Помірна та висока активність розвивались в однакової кількості хворих – 4 дітей, що склало по 9,1 % випадків. Дуже рідко – у 2 хворих (4,5 %) виявлена низька активність запалення за рівнем активності АЛТ (див. табл. 3.4).

Шлях інфікування у переважної більшості пацієнтів – парентеральний (54,7 %), а саме оперативні втручання (25,0 %), у тому числі пірсинг та татуювання, введення препаратів крові (20,5 %) та лікування у стоматолога (9,2 %) (див. табл. 3.4).

Клінічна маніфестація ХВГ характеризувалась мозаїчністю симптомів, з наявністю усіх можливих клінічних синдромів, патогномонічних для даної патології. Так на першому місці (88,6 %) за кількістю задокументованих скарг був абдомінальний синдром, 72,7 % дітей пред'являли скарги диспептичного характеру, у 70,5 % дітей страждали від астеновегетативного синдрому, 40,9 % - мали підвищену кровоточивість, кожна третя хвора дитина (31,8 %) мала клінічні ознаки жовтяниці (див. табл. 3.4).

При об'єктивному чи ультразвуковому обстеженні органів черевної порожнини у 13,6 % була діагностована гепато-, у 11,4 % – сплено-, та у 40,9 % – гепатоспленомегалія. При лабораторному дослідженні

периферичної крові ознаки анемії виявлялись у 70,5 %, тромбоцитопенія – у 59,1 % випадків (див. табл. 3.4).

Результати біохімічних досліджень у підлітків є схожими до даних, отриманих і проаналізованих у дітей молодшого шкільного віку, проте порушення у перших є більш значними, тобто спостерігалась наступна тенденція: зі збільшенням віку і тривалості захворювання виразність клінічних та біохімічних симптомів прогресувала.

Наростали ознаки ХС, оскільки збільшувався рівень загального ( $20,05 \pm 1,72$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) та прямого білірубіну ( $6,18 \pm 0,80$ ) мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), підвищувалась активність ЛФ у 4 рази ( $245,7 \pm 8,9$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), ГГТП – у 3,5 рази ( $23,07 \pm 2,05$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), збільшувалась кількість холестеролу ( $4,55 \pm 0,14$ ) ммоль/л ( $p < 0,05$ ) та  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $42,17 \pm 3,48$ ) у. од. ( $p < 0,001$ ). Ознаки ЦС були найбільш виразними у порівнянні з дітьми першої-четвертої груп. Так активність АЛТ зростала у 2 рази ( $48,74 \pm 2,18$ ) U/l ( $p < 0,001$ ), АСТ – у 2,4 рази ( $45,24 \pm 2,29$ ) U/l ( $p < 0,001$ ). КДР у підлітків склав  $0,95 \pm 0,08$  ( $p < 0,05$  у порівнянні з контролем), що свідчить про переважання у них некротичного типу цитолізу над запальним, на відміну від дітей 2-4 вікових груп (див. табл. 3.5).

Більше ніж у половини хворих діагностовано ознаки МЗС, оскільки тимолова проба зростала у 54,5 % у 2 рази ( $4,38 \pm 0,32$  од.,  $p < 0,001$ ), сулемова знижувалась у 56,8 % у 1,4 рази ( $1,84 \pm 0,04$  од.,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 3.5).

Гепатопривний синдром, у першу чергу, проявлявся порушенням білоксинтезуючої функції. Так кількість фібриногену у підлітків зменшувалась у 2 рази – найбільш виразно саме серед усіх вікових груп, середнє значення склало ( $1,82 \pm 0,21$ ) г/л ( $p < 0,001$ ). Вміст протромбінового індексу знижувався до ( $71,25 \pm 5,3$ ) % ( $p < 0,001$ ). А/Г коефіцієнт мав тенденцію до зниження ( $1,26 \pm 0,12$ ;  $p = 0,084$ ) за рахунок зменшення альбумінів та збільшення крупнодисперсних білків. Відбувалося порушення метаболізму сечовини, вміст якої сягав  $4,33 \pm 0,56$  ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 3.5).

Отже, діти найстаршої вікової групи, хворі на ХВГ, частіше перебувають на диспансерному спостереженні з приводу ХВГ С. На тлі домінування ФР вірусів, активність запального процесу, за показником АЛТ, у більшості випадків є мінімальною чи відсутньою. Переважна кількість дітей була інфікована парентеральним шляхом. У кожної хворої дитини зареєстровані основні клінічні симптоми ХВГ у різному співвідношенні. Як і у дітей молодших вікових груп, у підлітків переважали астеновегетативний, диспептичний, абдомінальний синдроми. У кожної третьої дитини зареєстровані скарги на геморагічний та холемічний синдроми. Як і у хворих, віком від 7 до 12 років, типовими були клінічні і лабораторні ознаки гіпеспленізму. Результати біохімічних досліджень у підлітків у порівнянні з молодшими дітьми засвідчують прогресування печінкової недостатності з віком. Наростали ознаки синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення та порушення основних функцій печінки, свідченням чого було порушення пігментного обміну, активності печінкових ферментів, білкового спектру крові та дезінтоксикаційної функції печінки.

При порівнянні ступеня виразності порушень тих чи інших біохімічних показників у дітей різних вікових груп було встановлено, що найбільш суттєвих змін дані параметри зазнали у дітей старшого шкільного віку. Зокрема, такі показники як рівень загального білірубину і його фракцій, активність АСТ, ЛФ, ГГТП, вміст холестеролу, глюкози, креатиніну,  $\beta$ -ліпопротеїнів, фібриногену та протромбіновий індекс достовірно відрізнялися від аналогічних показників молодших вікових груп (див. табл. 3.5). Також слід відмітити, що у дітей молодшого шкільного віку рівень загального білірубину мав тенденцію до підвищення у порівнянні з аналогічним показником у дітей, віком від 4 до 7 років ( $p=0,061$ ), активність ГГТП достовірно перевищувала таку у дітей першого року життя ( $p<0,01$ ), а кількість фібриногену була нижчою, ніж у дітей другої ( $p<0,05$ ) та третьої ( $p<0,001$ ) вікової груп. Окремо слід виділити значні зміни білкового спектру плазми крові у дітей грудного віку, зокрема більш виразне зниження А/Г

коефіцієнту у порівнянні з групою дітей молодшого шкільного віку ( $p < 0,01$ ), фібриногену – у порівнянні з дітьми переддошкільного віку ( $p < 0,001$ ), протромбінового індексу – порівняно з аналогічним показником у дітей, віком від 1 до 4 років ( $p < 0,001$ ), а також від 7 до 12 років ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 3.5).

Характеристика типу цитолізу за КДР також залежала від віку хворих. Зокрема у дітей першого року життя і підлітків, тобто у першій і п'ятій віковій групах, переважав некротичний тип цитолізу, тоді як у дітей віком від 1 до 12 років частіше мав місце запальний тип цитолізу.

**3.1.3. Діагностичне значення вмісту  $\alpha$ -фетопротейну у сироватці крові дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.** Встановлено, що у практично здорових дітей контрольної групи  $\alpha$ -ФПН не визначався у сироватці крові. Тоді як у дітей, хворих на ХВГ, його рівень коливався від 0 до 13 пг/л. Доведено, що вміст даного білку певною мірою залежить від фази реплікації вірусу, активності запального процесу, а також від віку хворої дитини. Так у дітей, хворих на ХВГ В і С, вірус в організмі яких перебував у стані активної реплікації, вміст  $\alpha$ -ФПН достовірно перевищував такий у ФІ/ЛС, що склало відповідно  $(3,82 \pm 0,81)$  пг/л проти  $(0,49 \pm 0,19)$  пг/л ( $p < 0,01$ ) (рис. 3.1).

Також чітка прямопропорційна залежність кількості  $\alpha$ -ФПН встановлена у залежності від активності запального процесу. Так при відсутності чи мінімальній активності запалення у печінці, вміст білку становив  $(1,32 \pm 0,53)$  пг/л, тоді як при низькій, а також при помірній та високій активності наставало зростання рівня  $\alpha$ -ФПН у 4-7 разів, що склало відповідно  $(7,25 \pm 2,14)$  пг/л ( $p < 0,001$  проти  $A_{0+1}$ ) та  $(6,36 \pm 1,17)$  пг/л ( $p < 0,001$  проти  $A_{0+1}$ ) (рис. 3.2).

При порівнянні значень  $\alpha$ -ФПН у дітей, хворих на ХВГ, у залежності від віку було встановлено, що найвищі показники зареєстровані у дітей першого року життя  $(6,33 \pm 2,01)$  пг/л, а також віком від 4 до 7 років  $(7,25 \pm 1,04)$  пг/л. Найменший вміст  $\alpha$ -ФПН спостерігався у дітей, віком від 7

до 12 років ( $0,37 \pm 0,21$ ) пг/л, що носило статистично достовірну різницю (табл. 3.6).

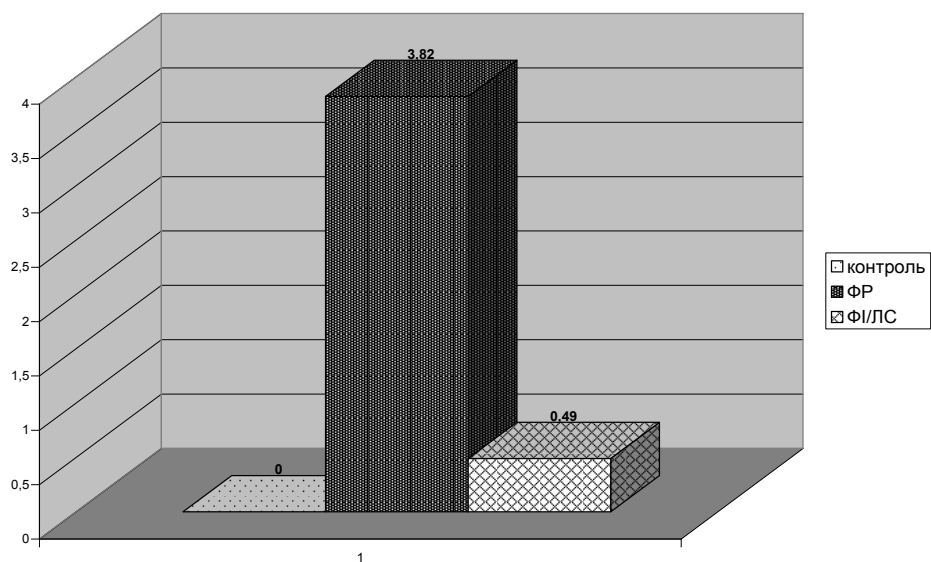


Рис. 3.1. Вміст  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, залежно від фази захворювання.

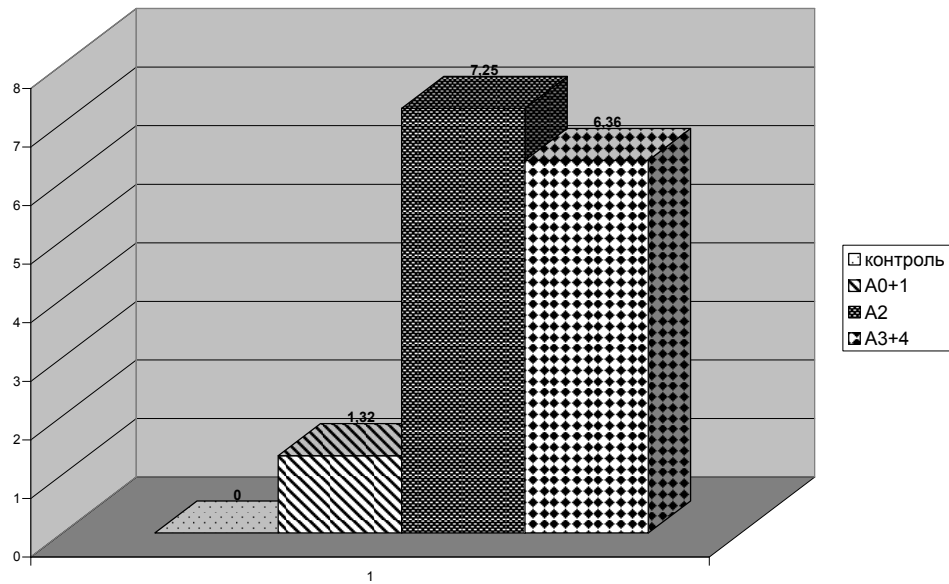


Рис. 3.2. Вміст  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, залежно від активності запального процесу.

Поява даного білку, який є онкомаркером і показником фіброзу печінки, у дітей різного віку, хворих на ХВГ В і С, на нашу думку, є несприятливою прогностичною ознакою, що може вказувати на прогресивність перебігу, прогресування фіброзу печінки. Підтвердженням даних міркувань є достовірно більші значення  $\alpha$ -ФПН у дітей із ФР вірусу та високою активністю запального процесу у печінці.

Таблиця 3.6

**Вікова динаміка вмісту  $\alpha$ -ФПН (пг/л) сироватки крові у дітей,  
хворих на хронічні вірусні гепатити В і С ( $M \pm m$ )**

Група хворих (вік)	Контроль, n=63	Хворі на ХВГ, n=66	p
Перша (від 8 міс до 1 року)	0 (n=10)	6,33±2,01 (n=10) p1,4<0,01	<0,05
Друга (від 1 до 4 років)	0 (n=18)	3,50±1,15 (n=16) p2,3<0,05	>0,05
Третя (від 4 до 7 років)	0 (n=14)	7,25±1,04 (n=10) p3,4<0,001 p3,5<0,05	<0,01
Четверта (від 7 до 12 років)	0 (n=12)	0,37±0,21 (n=12) p4,5<0,01	>0,05
П'ята (від 12 до 18 років)	0 (n=9)	3,95±0,94 (n=18)	<0,001

**3.1.4. Діагностичне значення вмісту вільного та пептидно-зв'язаного гідоксипроліну у сироватці крові дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.** Встановлено, що у практично здорових дітей контрольної групи вміст ВГОП у сироватці крові коливався від 12,0 до 38,0 мкмоль/л, середнє значення склало (26,28±2,63) мкмоль/л, ПЗГОП – від 11,75 до 30,25 мкмоль/л, середнє значення – (19,36±1,36) мкмоль/л, сумарного гідоксипроліну (ВГОП+ПЗГОП) – від 24,75 до 62,25 мкмоль/л, середнє значення даного показника становило (45,64±3,43) мкмоль/л. Тоді як у дітей, хворих на ХВГ, вміст сироваткового ВГОП, який відображає процеси синтезу і деструкції незрілого колагену на тлі зниження еластазної активності, був дещо більшим, і коливався від 14,75 до 48,25 мкмоль/л, середнє значення склало 27,67±2,42 мкмоль/л (p>0,05). Слід відмітити, що у хворих дітей суттєво зростав рівень ПЗГОП, який характеризує процеси колагеноутворення – від 14,25 до 49,50 мкмоль/л, середнє значення склало (29,03±2,84) мкмоль/л (p<0,01), що відобразилось на достовірному збільшенні вмісту сумарного гідоксипроліну, вміст якого коливався від



35,50 до 81,25 мкмоль/л, середнє значення – (56,70±4,10) мкмоль/л (p<0,05) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Вміст ВГОП, ПЗГОП та сумарного гідроксипроліну (мкмоль/л) у сироватки крові у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, в залежності від віку (M±m)**

Група хворих (вік)	Контроль, n=63			Хворі на ХВГ, n=98		
	ВГОП	ПЗГОП	ВГОП+ ПЗГОП	ВГОП	ПЗГОП	ВГОП+ ПЗГОП
Перша (від 8 міс до 1 року)	15,47±2,19 (n=10)	14,12±0,87 (n=10)	29,17±2,18 (n=10)	15,76±2,43 (n=10)	17,43±0,97* (n=10)	38,23±2,01** (n=10)
Друга (від 1 до 4 років)	22,73±0,69 (n=18)	18,09±1,32 (n=18)	39,52±1,63 (n=18)	23,24±1,19 (n=16)	23,91±1,67** (n=16)	46,09±1,96* (n=16)
Третя (від 4 до 7 років)	26,21±1,17 (n=14)	21,27±0,37 (n=14)	47,19±0,91 (n=14)	27,71±1,04 (n=10)	24,24±1,44* (n=10)	54,13±1,37*** (n=10)
Четверта (від 7 до 12 років)	29,34±2,81 (n=12)	22,29±2,17 (n=12)	52,62±3,18 (n=12)	29,95±2,21 (n=18)	39,06±1,07*** (n=18)	66,38±2,14** (n=18)
П'ята (від 12 до 18 років)	37,76±2,12 (n=9)	21,34±1,86 (n=9)	59,05±3,19 (n=9)	42,16±0,94*(n=44)	42,28±0,64*** (n=44)	78,17±1,48*** (n=44)
Загалом	26,28±2,63	19,36±1,36	45,64±3,43	27,67±2,42	29,03±2,84**	56,70±4,10*

Такий метаболізм СТ, що характеризується підвищенням синтезом колагену у дітей із ХВГ, свідченням чого є збільшення вмісту в сироватці крові ПЗГОП, на нашу думку, може бути спрямованим на збереження цілісності структури та об'єму ушкодженої печінки в умовах виразного некрозапального процесу.

Доведено, що вміст даних продуктів метаболізму СТ певною мірою залежить від фази реплікації вірусу, активності запального процесу, а також від віку хворої дитини. Так вміст ПЗГОП та сумарного гідроксипроліну у хворих дітей із ФР вірусу, достовірно перевищував такий у ФІ/ЛС, що склало

відповідно ( $33,86 \pm 2,61$ ) мкмоль/л проти ( $24,31 \pm 2,47$ ) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) (табл. 3.8).

Чітка прямопропорційна залежність вмісту ВГОП, ПЗГОП та сумарного гідроксипроліну встановлена від активності запального процесу. Так при відсутній чи мінімальній активності ( $A_{0+1}$ ) запалення у печінці вміст ПЗГОП становив  $24,17 \pm 1,44$  мкмоль/л, тоді як у дітей з низькою ( $A_2$ ), помірною та високою активністю ( $A_{3+4}$ ) даний показник достовірно зростав і становив  $28,06 \pm 2,03$  та  $38,31 \pm 1,76$  відповідно ( $p < 0,001$  проти  $A_{0+1}$ ,  $p < 0,001$  проти  $A_2$ ) (див. табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Вміст ВГОП, ПЗГОП та сумарного гідроксипроліну у сироватці крові у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, в залежності від фази реплікації вірусу та активності запального процесу ( $M \pm m$ )**

Група хворих	Вміст гідроксипроліну, мкмоль/л		
	ВГОП	ПЗГОП	ВГОП+ПЗГОП
$A_{0+1}$ , n=69	$26,85 \pm 1,82$	$24,17 \pm 1,44^*$ $p_{1,3} < 0,001$	$49,97 \pm 2,19$ $p_{1,3} < 0,001$
$A_2$ , n=12	$27,31 \pm 2,44$	$28,06 \pm 2,03^{**}$ $p_{2,3} < 0,001$	$54,37 \pm 1,46$ $p_{2,3} < 0,01$
$A_{3+4}$ , n=17	$29,14 \pm 2,06$	$38,31 \pm 1,76^{***}$	$66,45 \pm 3,07^{**}$
ФР, n=67	$28,94 \pm 2,21$	$33,86 \pm 2,61^{***}$ $p < 0,05$	$62,81 \pm 3,34^{***}$ $p < 0,05$
ФІ, n=31	$26,86 \pm 1,94$	$24,31 \pm 2,47$	$51,17 \pm 2,96$
Контроль, n=63	$26,28 \pm 2,63$	$19,36 \pm 1,36$	$45,64 \pm 3,43$

Отже, вміст ПЗГОП у дітей із помірною та високою активністю запального процесу зростає удвічі у порівнянні таким у дітей групи контролю ( $p < 0,001$ ), а сумарного – у 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), що доводить посилення процесів фіброзоутворення у печінці із зростанням біохімічної активності запалення (див. табл. 3.8).

При аналізі вікової динаміки вмісту продуктів метаболізму СТ у практично здорових дітей, а також хворих на ХВГ, було встановлено її пряму залежність від віку. Так зі збільшенням віку дітей контрольної групи

збільшується вміст ВГОП, ПЗГОП, і, відповідно, сумарного гідроксипроліну (див. табл. 3.7). Аналогічна закономірність підтверджувалась і при дослідженні вказаних біохімічних показників у 98 хворих на ХВГ В і С. Встановлено, що зі збільшенням віку хворих дітей наростала і різниця між вмістом ПЗГОП у порівнянні з контрольною групою. Зокрема, у дітей першого року життя даний показник зростав на 23,44 % ( $p < 0,05$ ), у віці від 1 до 4 років – на 32,17 % ( $p < 0,01$ ), від 7 до 12 років – на 75,2 % ( $p < 0,001$ ), та найбільше – у дітей, віком від 12 до 18 років, що склало 98,10 % ( $p < 0,001$ ). Найменший вміст ПЗГОП спостерігався у хворих дітей, віком від 4 до 7 років – він збільшувався лише на 13,96 % ( $p < 0,05$ ), що опосередковано доводить формування ЦП (рис. 3.3). Збільшення вмісту ПЗГОП відобразилось на достовірному зростанні рівня сумарного гідроксипроліну. Слід відмітити, що вміст ВГОП достовірно перевищував такий у контролі лише у підлітків, що склало  $(42,16 \pm 0,94)$  ( $p < 0,05$ ) та може вказувати на виразні фіброзні зміни у даного контингенту хворих (див. табл. 3.7).

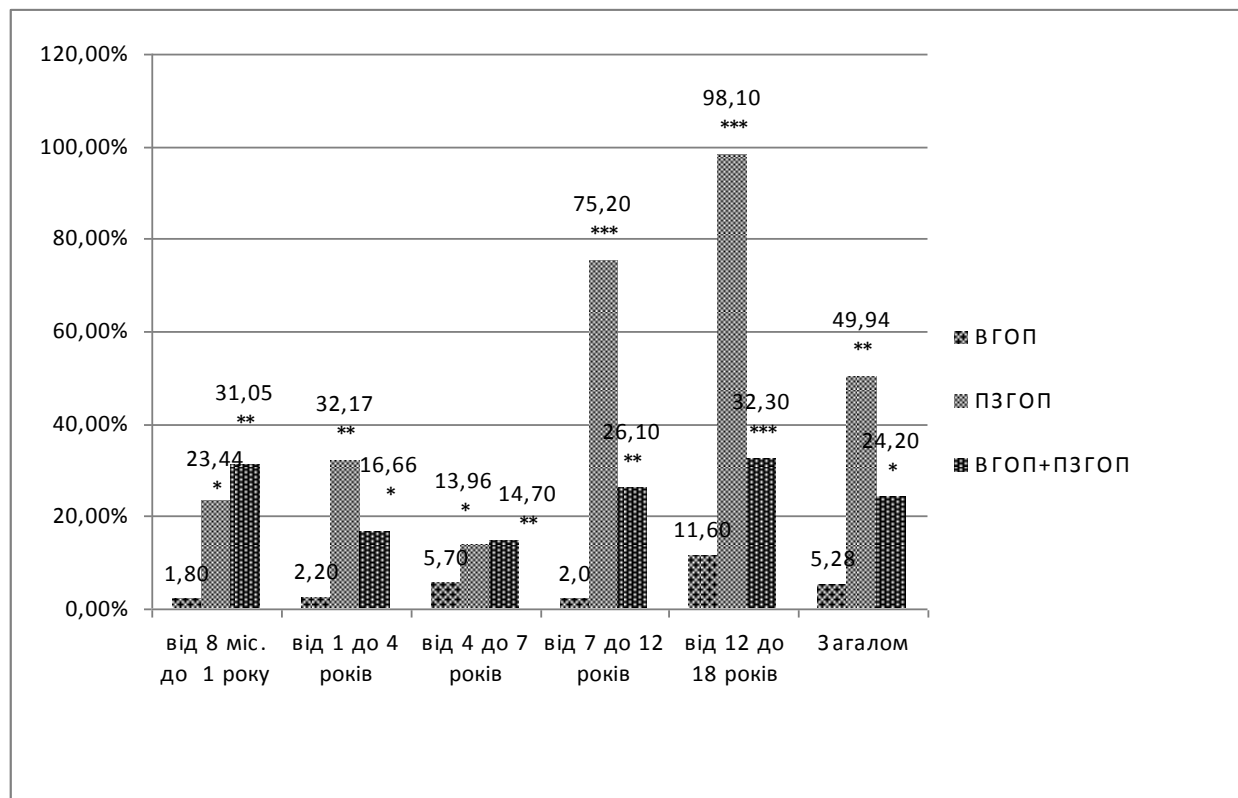


Рис. 3.3. Вікова динаміка вмісту ВГОП, ПЗГОП та сумарного гідроксипроліну (мкмоль/л) у сироватці крові дітей, хворих на ХВГ.

Отже, особливості перебігу ХВГ у дитячому віці визначають характер процесів фіброзування, про що свідчить дисбаланс між процесами синтезу і деструкції СТ у бік посилення її синтезу. Підтвердженням даних міркувань є достовірно більші значення ПЗГОП у дітей із ФР вірусу, високою активністю запального процесу у печінці, а також із збільшенням віку хворої дитини. Збільшення вмісту саме ПЗГОП, як найбільш важливого показника колагеноутворення, у сироватці крові дітей різного віку, хворих на ХВГ В і С, на нашу думку, є маркером прогресивності перебігу захворювання, формування фіброзу та ЦП.

### **3.2. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників у померлих дітей, хворих на вірусні гепатити**

Проведено патогенетичний аналіз клініко-параклінічних показників 26 померлих дітей від вірусних гепатитів.

Скарги на момент поступлення до стаціонару істотно відрізнялися від віку хворої дитини. Так при госпіталізації дітей першого року життя (84,6 %), особливо новонароджених, пред'являлися скарги, що є загальними та непатогномонічними для ВГ, зокрема : зниження апетиту, кволість, блювання, діарея, кашель, підвищення температури тіла. На основі вказаних симптомів лікарям первинної медичної ланки у більшості випадків було важко орієнтуватися та встановити правельний діагноз. Тому діагноз направляючої установи, а також при госпіталізації, у багатьох хворих трактувався як «гостра кишкова інфекція» або «пневмонія». Лише в окремих випадках при зборі анамнезу захворювання вдавалось отримати дані, що свідчили про наявність у хворої дитини ознак холемічного та ахолічного синдромів, зокрема, потемніння сечі та посвітління випорожнень протягом останніх днів чи тижнів, а також збільшення розмірів живота.

Тоді як у дітей старшого віку скарги були більш специфічними для патології печінки, такі як : жовте забарвлення шкіри та слизових оболонок, періодичні носові кровотечі, петехіальний висип на шкірі. Вищевказані скарги мали б насторожити медичний персонал районних лікарень стосовно можливого ВГ. Проте жодна дитина не була обстежена на маркери ВГ. Діагноз при направленні формулювався як «Лептоспіроз? Гепатит?».

Більшість хворих, переважно жителів сільської місцевості (n=18; 69,2 %), звертались за медичною допомогою лише у разі появи виразної клінічної симптоматики, з ознаками декомпенсованої печінкової недостатності і/або сформованого ЦП. На нашу думку, саме несвоєчасне поступлення до стаціонару та пізня діагностика ХВГ могли слугувати настанню летального наслідку.

При поступленні до стаціонару стан дітей оцінювався як тяжкий (n=10, 38,5 %) чи вкрай тяжкий (n=16, 61,5 %). У всіх хворих характерною ознакою було порушення формули сну: сонливість удень та безсоння, збудливість вночі. У всіх обстежених спостерігалася виразна жовтяниця, інтенсивність якої дещо зменшувалась із наростанням печінкової недостатності та розвитком прекоми і коми. У 100 % обстежених мали місце прояви геморагічного синдрому (петехіальний чи екхімозний висип на шкірі, носові кровотечі), які досягали піку інтенсивності за 2-3 дні до смерті. У 18 хворих (69,2 %) при об'єктивному обстеженні діагностувалась гепатоспленомегалія, у 8 (30,8 %) – навпаки, мало місце значне зменшення розмірів печінки. Випорожнення були гіпо- (n=15, 57,7 %) чи ахолічними (n=11, 42,3 %), у 100 % випадків спостерігалось потемніння сечі. Незважаючи на проведенне інтенсивне лікування у дітей наростали прояви печінкової недостатності, що призводило до розвитку печінкової коми та смерті.

У померлих виявлені суттєві патологічні зміни гемограми (табл. 3.9). Так, у всіх пацієнтів виникала анемія, яка в процесі недуги посилювалась: кількість еритроцитів зменшувалась від  $(2,78 \pm 0,49) \cdot 10^{12}/\text{л}$  при госпіталізації до  $(1,78 \pm 0,32) \cdot 10^{12}/\text{л}$ , вміст гемоглобіну – від  $(107,10 \pm 2,62)$  г/л до

(48,97±2,16) г/л. Посилення порушень з боку червоної крові, на нашу думку, може бути пов'язане як з порушенням еритропоезу, так і з наявністю у хворих клінічних ознак геморагічного синдрому.

Кількість лейкоцитів зростала від незначного лейкоцитозу при госпіталізації (9,51±0,43)  $10^9$ /л із зсувом лейкоцитарної формули вліво, до (17,16±1,24)· $10^9$ /л напередодні смерті. Зростала ШОЕ – максимальні показники становили (27,04±3,18) мм/год (див. табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Показники гемо- та коагулограми хворих, які померли від ВГ (M±m)**

Показник	При госпіталізації	Екстремальні значення*
Еритроцити, $\cdot 10^{12}$ /л	2,78±0,49	1,78±0,32
Гемоглобін, г/л	107,10±2,62	48,97±2,16
ШОЕ, мм/год	4,89±1,52	27,04±3,18
Лейкоцити, $\cdot 10^9$ /л	9,51±0,43	17,16±1,24
Тромбоцити, $\cdot 10^9$ /л	88,13±7,11	34,93±3,12
Гематокрит	48,42±1,17	46,52±2,34
Час згортання, хв	6,55-9,45	17,45-28,55
Протромбінний індекс, %	82,68±2,08	55,64±3,31
Фібриноген, г/л	1,64±0,22	0,78±0,14
Фібриноген В	+	++
Час рекальцифікації плазми, сек	124,08±3,19	136,19±3,86

Примітка. (Тут і в наступній таблиці) \* – найвищі значення клінічних і біохімічних показників крові.

Звертала увагу значна тромбоцитопенія, яка була вперше виявлена при госпіталізації та прогресувала із погіршенням стану хворих. Так кількість тромбоцитів при первинному лабораторному дослідженні периферичної крові становила (88,13±7,11)· $10^9$ /л, екстремальні значення напередодні смерті – (34,93±3,12)· $10^9$ /л. Виразна тромбоцитопенія призводила до порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу. Окрім порушення механізмів первинного гемостазу, у дітей, які померли від печінкової недостатності, що розвинулась на тлі ВГ, відбувалися суттєві розлади коагуляційного гемостазу. Доказом цього було: подовження часу згортання

крові від 6,55-9,45 хв при госпіталізації до 17,45-28,55 хв, значне зменшення протромбінового індексу від  $(82,68 \pm 2,08) \%$  до  $(55,64 \pm 3,31) \%$ , зниження кількості фібриногену крові від  $(1,64 \pm 0,22)$  г/л до  $(0,78 \pm 0,14)$  г/л, поява патологічного фібриногену В, а також збільшення часу рекальцифікації плазми від  $(124,08 \pm 3,19)$  до  $(136,19 \pm 3,86)$  с (див. табл. 3.9). Головним чином, такі суттєві зміни коагуляційного гемостазу, як розвиток прогресуючої гіпокоагуляції, пов'язані з порушенням білоксинтезуючої функції печінки, що наростали із прогресуванням печінково-клітинної недостатності. На нашу думку, усі прояви геморагічного синдрому мають істотне значення в танатогенезі при печінковій комі.

У більшості пацієнтів у біохімічному аналізі крові визначена досить висока, з тенденцією до посилення, гіпербілірубінемія. У середньому рівень загального білірубіну становив  $(244,2 \pm 19,7)$  мкмоль/л, хоча в окремих випадках він сягав 291 мкмоль/л. Активність АЛТ зростала у всіх хворих, в середньому до  $(76,08 \pm 4,27)$  У/л, АСТ – до  $(37,87 \pm 3,29)$  У/л, екстремальні значення даних показників сягали відповідно  $(192,75 \pm 3,75)$  У/л та  $(145,98 \pm 5,39)$  У/л, а тимолова проба складала  $(4,30 \pm 0,36)$  од., що значно перевищувало нормальні показники. У всіх хворих розвивалась гіпоглікемія, яка пов'язана із порушенням глікогенсинтезуючої функції печінки, а також вичерпанням запасів глікогену (табл. 3.10).

*Випадок із практики.* Хворий С., 3,5 місяців, житель сільської місцевості, поступив 29 квітня о 14 годині до Дитячої обласної клінічної інфекційної лікарні м. Вінниці зі скаргами на жовте забарвлення шкіри, склер та слизових оболонок, потемніння сечі, знебарвлення випорожнень, підвищення температури тіла до 39 °С, млявість, повторне блювання. Діагноз при направленні: «Вірусний гепатит?».

Таблиця 3.10

**Біохімічні показники крові хворих, які померли від ВГ (М±m)**

Показник	При госпіталізації	Екстремальні значення
Білірубін загальний, мкмоль/л	$91,6 \pm 14,9$	$244,2 \pm 19,7$

Білірубін прямий, мкмоль/л	58,6±12,7	128,91±12,4
Білірубін непрямий, мкмоль/л	29,1±3,72	109,9±4,32
АЛТ, U/l	76,08±4,27	192,75±3,75
АСТ, U/l	37,87±3,29	145,98±5,39
Тимолова проба, од	1,7±0,14	4,30±0,36
Глюкоза, ммоль/л	2,21±0,39	1,63±0,44

Анамнез захворювання: протягом двох останніх тижнів (з 18.04 по 29.04) дитина перебувала на лікуванні в районній лікарні з приводу пневмонії. Проте незважаючи на проведенне лікування стан дитини погіршувався, 24.04 мама помітила пожовтіння склер та шкіри, потемніння сечі, знебарвлення випорожнень, підвищену кровоточивість. Стан дитини прогресивно погіршувався незважаючи на проведення дезінтоксикаційної інфузійної терапії (розвинулось збудження, висока гарячка, безсоння), 29.04 дитина була доставлена до обласного стаціонару та госпіталізована.

З анамнезу життя відомо, що дитина від I вагітності, яка перебігала на тлі загострення хронічного пієлонефриту та виразкової хвороби дванадцятипалої кишки. Дитина народилася у терміні 35 тижнів, маса при народженні – 2300 г, з гемолітичною хворобою по АВ°, з приводу чого з 4 доби життя тричі проводилось заміне переливання крові та інші парентеральні втручання. На грудному вигодовуванні. Супутня патологія: артрогриппоз, вроджений стридор.

Об'єктивно : при поступленні стан дитини вкрай тяжкий, виразна жовтяниця, геморагічний висип на шкірі, гепатоспленомегалія.

Клінічний діагноз: Вірусний гепатит В, злоякісний перебіг. Печінкова недостатність. Мозкова кома III ст. Дистрес синдром. Множинні вади розвитку.

Лабораторні дані. Загальний аналіз крові: еритроцити –  $3,0 \cdot 10^{12}/л$ , Нв – 100 г/л, тромбоцити –  $35 \cdot 10^9/л$ , лейкоцити –  $9 \cdot 10^9/л$ , паличкоядерні нейтрофіли – 10 %, сегментоядерні – 70 %, лімфоцити – 17 %, моноцити – 3 %, ШОЕ – 3 мм/год. Коагулограма: протромбіновий індекс – 56 %, фібриноген – 0,77 г/л; фібриноген В (+), час рекальцифікації плазми – 135 с.



Біохімічні дані: глюкоза крові – 1,5 ммоль/л, залишковий азот – 19,2 ммоль/л, сечовина – 5,6 ммоль/л, креатинін – 0,088 ммоль/л, загальний білірубін – 106-137 мкмоль/л, прямий – 94-73 мкмоль/л, непрямий – 12-64 мкмоль/л, АЛТ – від 61,68 U/l до 143,92 U/l; АСТ – від 41,12 U/l до 102,8 U/l; тимолова проба – від 0,6 до 2,3 од. Методом ІФА виявлені HBsAg, HBeAg, анти-HBc IgM, при ПЛР - ДНК HBV.

Незважаючи на проведенне інтенсивне парентеральне лікування, 1 травня о 3 годині дитина померла.

Заключний діагноз: Вірусний гепатит В, злоякісний перебіг. Гостра печінкова недостатність. Синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, III фаза. Мозкова кома III ст. Дистрес синдром. Залишкові явища пневмонії.

Патологоанатомічний діагноз:

1. Вірусний гепатит В, злоякісний перебіг.
2. Гостра печінкова недостатність: геморагічний синдром – крововиливи у шкіру, слизові і під серозні оболонки, набряк головного мозку. Дистрес синдром. Дрібновогнищева двобічна пневмонія. Акцидентальна інволюція тимусу III-IV фаза.

Безпосередньою причиною смерті слугувала наростаюча печінково-клітинна недостатність.

Таким чином, аналіз летальних випадків свідчить про розвиток тотальної печінково-клітинної недостатності у дітей, хворих та ВГ, а також порушення дезінтоксикаційної функції печінки, як основного внутрішнього органу-бар'єру організму людини, що призводить до ендогенної інтоксикації та смерті.

### Резюме

Проведений патогенетичний аналіз основних клініко-параклінічних показників показав, що найбільш часто ХВГ виявляється у дітей шкільного віку (63,27 %). Хронічну HBV-інфекцію виявлено у 39,8 %, HCV-інфекцію – у 60,2 %. У переважної кількості хворих (68,4 %) вірус знаходиться у ФР.

Із з'ясованих шляхів інфікування найчастіше відбувається вертикальним шляхом – 23,5 %, на другому місці – парентеральний шлях передачі вірусів при проведенні парентеральних, у тому числі оперативних втручань (20,4 %), а також при введенні препаратів крові (16,3 %). Слід відмітити, що у кожної третьої дитини ймовірний шлях і час інфікування не з'ясований.

Виразність клінічної маніфестації певною мірою залежить від фази реплікації вірусу, а саме: основні клініко-параклінічні симптоми більш виразні у хворих, вірус у яких перебуває у ФР. Некротичний тип цитолізу переважає у ФР, у ФІ/ЛС - запальний тип.

Проведений патогенетичний аналіз основних клінічних та біохімічних показників у віковому аспекті, що розвиваються у дітей, хворих на ХВГ засвідчив ряд особливостей. Так у дітей першого року життя, які інфіковані перинатально, з однаковою частотою діагностується як ХВГ В, так і ХВГ С у ФР вірусу (100 %). Активність запального процесу здебільшого низька (50,0%) чи помірна (30,0 %). Клінічний перебіг ХВГ характеризується диспептичним синдромом (80,0 %), у всіх дітей зареєстрована анемія, біохімічні ознаки синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення та печінково-клітинної недостатності.

У дітей переддошкільного віку (від 1 до 4 років), які у половині випадків інфікуються перинатально, на диспансерному спостереженні перебувають частіше з приводу ХВГ С (62,5 %), рідше – ХВГ В (37,5 %), у 75,0 % діагностовано ФР вірусу. У дітей даного віку із ХВГ на першому місці домінують клінічні прояви диспептичного синдрому, біохімічні – холестатичного, менш виразними є гепатопривний та цитолітичний синдроми.

Характерними особливостями клінічного перебігу ХВГ у дітей, віком від 4 до 7 років, є однакова кількість ДНК/РНК-позитивних та ДНК/РНК-негативних дітей. У переважної кількості хворих активність запального процесу мінімальна (40,0 %) чи відсутня (30,0 %), проте у 20,0 % – висока.

Шлях інфікування у половини хворих невідомий. Клінічна картина характеризується наявністю астеновегетативного (100 %), диспептичного (70,0 %) та абдомінального (70,0 %) синдромів, гепато- та гепатоспленомегалії (50,0 %). Наявність анемії (80,0 %) та тромбоцитопенії (60,0 %) вказують на розвиток гіперспленізму у значної кількості хворих даного віку. Біохімічними знахідками є виразний ХС, свідченням якого є гіпербілірубінемія за рахунок прямої фракції, збільшення активності ЛФ, ГГТП. Менш виразними є індикатори гепатопричного, ЦС та МЗС.

Для дітей молодшого та старшого шкільного віку типовим є переважне інфікування HCV. На тлі домінування ФР вірусів типовою є мінімальна або відсутня активність запального процесу. Переважна кількість дітей інфікується парентерально. На тлі домінування астеновегетативного, диспептичного та абдомінального синдромів, у кожної третьої дитини реєструються скарги на геморагічний та холемічний синдроми. В усіх дітей розвивається гепато-і/або спленомегалія з ознаками гіперспленізму. Результати біохімічних досліджень у дітей шкільного віку засвідчують прогресування у них ознак печінкової недостатності. На відміну від хворих молодших вікових груп, у дітей віком від 7 до 18 років окрім типового для ХВГ синдрому холестазу, наростає ЦС. Також реєструється посилення мезенхімально-запального та гепатопричного синдромів. У дітей першого року життя і підлітків частіше розвивається некротичний тип цитолізу, тоді як у дітей віком від 1 до 12 років частіше має місце запальний тип.

На основі аналізу вікових особливостей перебігу ХВГ В у дітей залежно від фази вірусної реплікації можна зробити висновок, що із збільшенням тривалості захворювання та віку дитини зростає імовірність інтеграції ДНК вірусу гепатиту В у геном гепатоцитів, а також перехід HCV-інфекції у неактивну латентну стадію. Це сприяє зниженню активності захворювання і досягненню ремісії.

На нашу думку, дані вікові особливості патогенезу ХВГ В і С обумовлюють швидкість розвитку ЦП і, відповідно, несприятливий прогноз

захворювання. Враховуючи дані біохімічних особливостей у дітей різного віку необхідно індивідуально підбирати засоби патогенетичної терапії, спрямовані в одних випадках на зменшення рівня патогенно індукованого апоптозу та некрозу гепатоцитів, в інших – зменшувати виразність запалення у печінці.

Поява  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові дітей різного віку, хворих на ХВГ В і С, на нашу думку, є несприятливою прогностичною ознакою, що може вказувати на прогресивність перебігу та прогресування фіброзу печінки.

При ХВГ В і С у дітей відбувається посилення синтезу і зменшення деструкції СТ, свідченням чого є достовірне збільшення вмісту ПЗГОП, як найважливішого показника колагеноутворення. Зареєстровано інтенсивніші процеси фіброгенезу у дітей із ФР вірусу та високою активністю запального процесу у печінці, а також із збільшенням віку, особливо у дітей молодшого та старшого шкільного віку. Отже, вміст ПЗГОП може використовуватись як біохімічний маркер інтенсивності фіброгенезу та предиктор несприятливого перебігу захворювання.

Найбільшу кількість серед померлих із ВГ становлять діти першого року життя (84,6 %) та мешканці сільської місцевості (69,2 %), в яких надто пізно діагностується ВГ.

Клінічна картина передусім залежить від віку і характеризується виразними ознаками холемічного та ахолічного синдромів. При лабораторному дослідженні виявлена анемія, ознаки холестазу та цитолізу, гіпоглікемія, а також зниження активності згортальної системи крові.

Проведений клініко-патогенетичний аналіз летальних випадків ВГ у дітей допоможе покращити лікувальну тактику ведення хворих із тяжким перебігом ВГ з метою попередження розвитку небезпечних для життя ускладнень.

Результати даного розділу оприлюднені у працях [132, 133, 134, 136, 137, 170, 175, 183, 186, 462, 499].



## РОЗДІЛ 4

### ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЛЕТАЛЬНИХ ВИПАДКІВ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ У ДІТЕЙ

Біопсійний метод дослідження із застосуванням рангових систем об'єктивізації показників типу систем METAVIR із визначенням сумарного об'єму пошкодження печінки дозволив науковцям досягти значних успіхів у вивченні хронічних, у тому числі і латентних, форм ВГ. Встановлення індексів гістологічної активності, фіброгенезу, стеатозу дозволило виявити ряд неспецифічних морфологічних маркерів, як критеріїв диференційної діагностики, ХВГ В та С, у тому числі і у дітей [109, 217, 228, 230, 253]. Але навіть біопсійне дослідження печінки не дає повної морфологічної картини відхилень від норми через нерівномірність патологічних процесів в органі [84]. А якщо врахувати, що цей метод дослідження в педіатричній практиці на Україні використовується досить обмежено [219], а у дітей раннього віку не проводиться взагалі, то наведені у даному розділі патоморфологічні особливості ВГ у дітей різного віку, померлих від даної патології, на наш погляд, представляють певний науково-практичний інтерес.

#### **4.1. Патоморфологія вірусних гепатитів В та С у дітей першого року життя**

Як відомо, у дітей раннього віку гістологічна структура печінки і в нормі дещо відрізняється від такої у дорослих, у першу чергу, своєю недосконалістю часточкової будови, ніжністю сполучнотканинних шляхів, відсутністю чітких меж між часточками. У функціональному плані у дітей раннього віку особливо чутливими до впливу патогенних факторів є синтез та евакуація жовчі. Слід підкреслити, що названі особливості спостерігаються у різних співвідношеннях і мають неоднаковий ступінь виразності. Виявити на такому фоні визнані неспецифічні морфологічні

маркери ВГ В та С буває складно, а іноді, і неможливо. Особливо це стосується ВГ з фульмінантним (злоякісним) перебігом у дітей першого року життя. При гістологічному дослідженні печінки померлих даного контингенту хворих звертає увагу надзвичайно виразний і нерівномірний набряк всередині часточок, який порушує балкову орієнтацію гепатоцитів (рис. 4.1). Набряк спостерігається і в порталному полі. Значне розширення лімфою лімфатичних щілин та судин виявляється за ходом жовчних проток та кровоносних магістралей, внаслідок чого порталні шляхи втрачають чіткість контурів, розширюються. У них спостерігаються явища метахромазії та осередки помірної лімфоцитарної інфільтрації. Часточкова будова означена нечітко (рис. 4.2).

При фульмінантному перебігу ВГ у дітей першого року життя частіше, ніж при інших варіантах перебігу, спостерігається гігантоклітинна трансформація гепатоцитів і майже постійно нерівномірний холестаза у жовчних капілярах та міжчасточкових жовчних дуктулах при відсутності поза печінкової блокади відтоку жовчі (за даними протоколів розтину померлих). Гепатоцити великих розмірів замість кубічної форми набувають відростчатого вигляду, мають декілька ядер, дезінтегровані набряковою рідиною і нагадують синцитій (рис. 4.3). Цитоплазма таких гепатоцитів різної інтенсивності еозинофільна, то гомогенна, то зернисто-глибчаста. Вважають, що подібна гігантоклітинна трансформація гепатоцитів відбувається внаслідок незавершеного поділу клітин. Подібно змінені гепатоцити при ВГ то дисеміновано, то осередками підлягають некрозу або патогенно індукованому апоптозу (рис. 4.4).

ПКМ часто деструктурований, «забруднений» білковими масами, можливо, і детритом загиблих клітин. Синусоїди та простори Діссе окреслені нечітко. Серед живих клітин та у вогнищах некрозу траплялися гнізда паренхіматозних клітин, які мали не кубічну, а спотворено витягнуту гострокінцеву або зірчасту будову із зморщеним, іноді фрагментованим, ядром без чітких контурів каріолеми. Такі зміни нами оцінені як ознаки

осередкового патогенно індукованого апоптозу (переважно у ефектній фазі) (рис. 4.5). У ділянках некрозу гістологічно іноді виявлялись багаточисленні розсіяні округлі, різних розмірів структури, зі значно конденсованою еозинофільною цитоплазмою та пікнотичним деформованим ядром. Довкола цитоплазматичної мембрани визначалась зона просвітлення (рис. 4.6). Такі структурні утворення нами кваліфіковані як тільця Каунсильмена (ознаки патогенно індукованого апоптозу у фазі деградації). При фульмінантному перебігу мобілізація ефекторних клітин навколо подібно змінених гепатоцитів траплялась рідко і була представлена поодинокими крупними лімфоцитами та макрофагами.

У дітей раннього віку холестатичні варіанти ВГ траплялися нерідко, мали фульмінантний перебіг з летальним наслідком. Так у одному випадку у дитини віком 3 місяців на тлі внутрішньопечінкового холестази, що виражалось розвитком білірубінового сладжу у внутрішньочасточкових жовчних капілярах та білірубіностази в цитоплазмі гепатоцитів (рис. 4.7), розвивалась гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка дещо відрізнялась від вищеописаної тим, що на тлі накопичення жовто-бурого пігменту у вигляді зерен, в цитоплазмі великих неправильної форми гепатоцитів, проліферуючі ядра не відокремлювались, а нагромаджувались, і тим самим ще більше уподібнювали гепатоцити до синцитіальних клітин. Останні роз'єднувались набряковою рідиною, яка розширювала простори Діссе, відділяла ендотелій і весь комплекс стромальних клітин від гепатоцитів, що на наш погляд, сприяє розвитку патогенно індукованого апоптозу, некрозу, створює умови для фіброгенезу, погіршенню метаболізму та всіх функцій печінки (рис. 4.8).



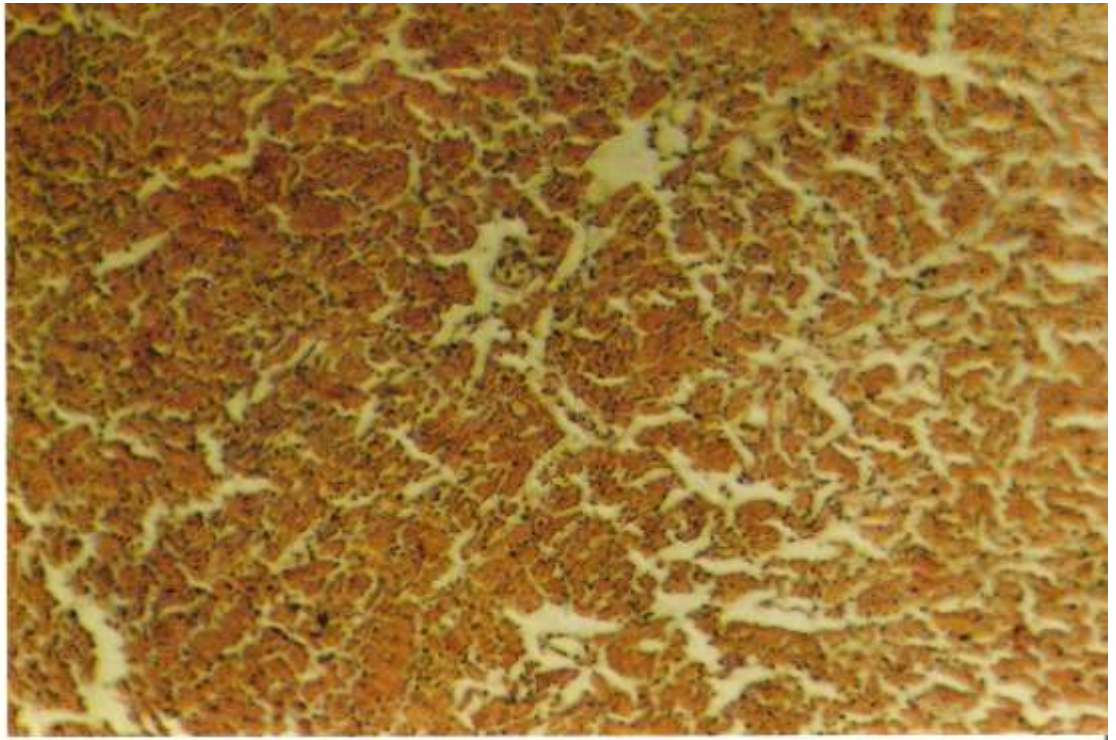


Рис. 4.1. Анізоцитоз гепатоцитів на тлі особливо виразного набряку строми печінки, часточкова будова якої означена нечітко. Фетальний ВГ неуточненої етіології. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

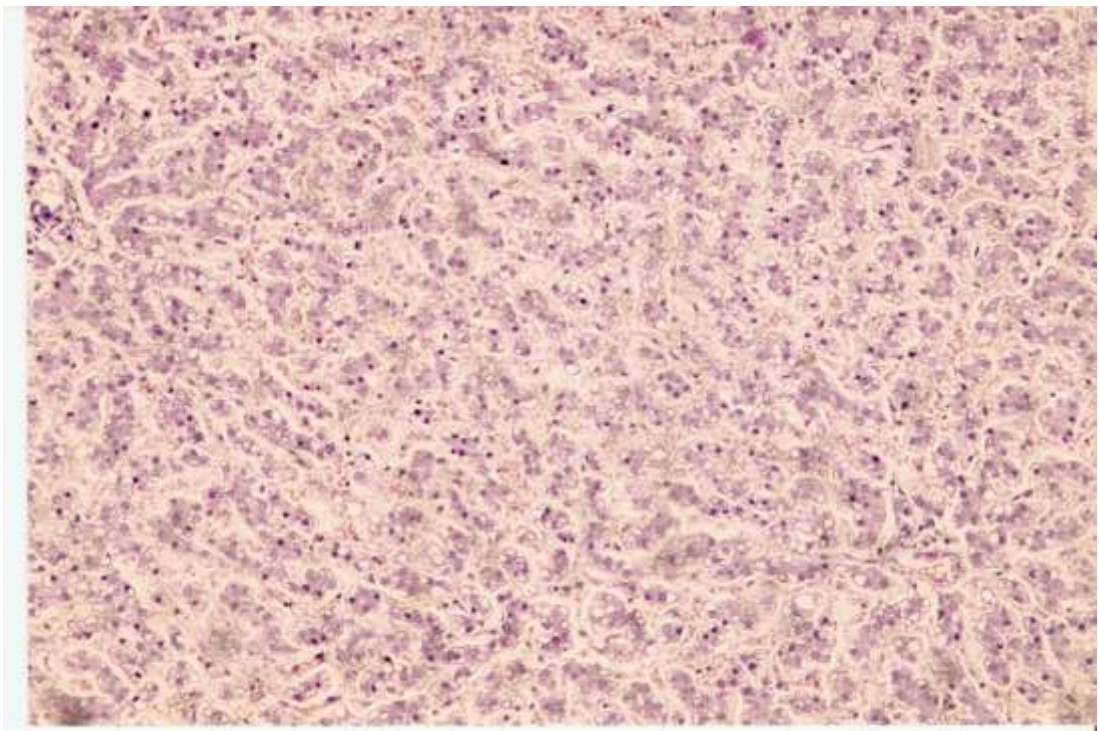


Рис. 4.2. Гігантоклітинний гепатит із значним набряком строми та з нечіткою межею між часточками. ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 100.



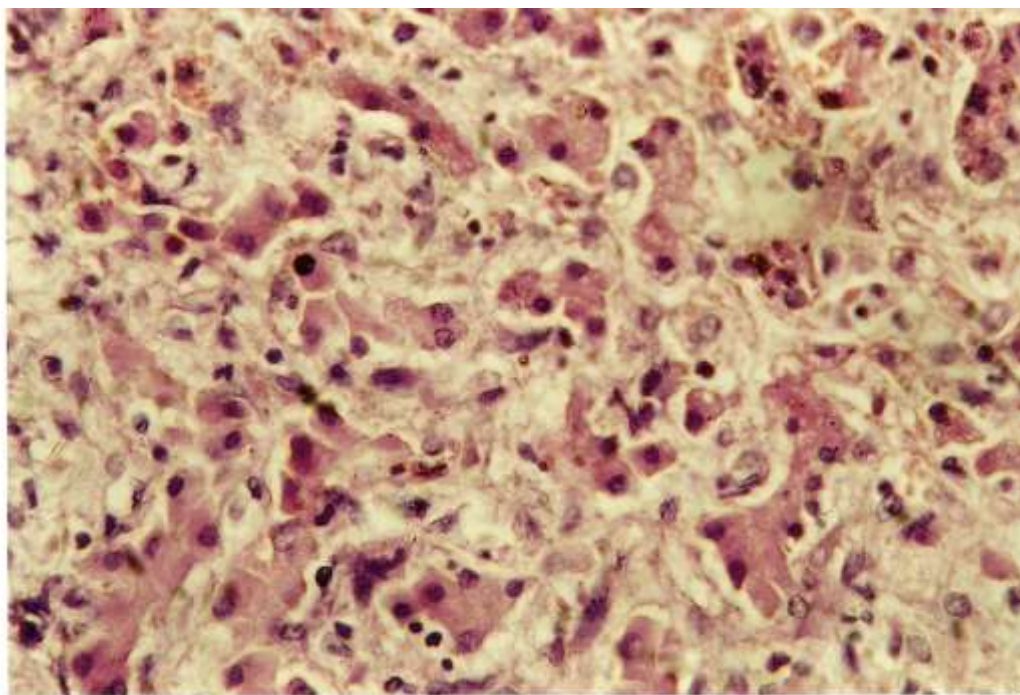


Рис. 4.3. Гепатоцити мають неправильну форму, декілька ядер, дезінтегровані набряковою рідиною та деструктурованим позаклітинним матриксом. ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

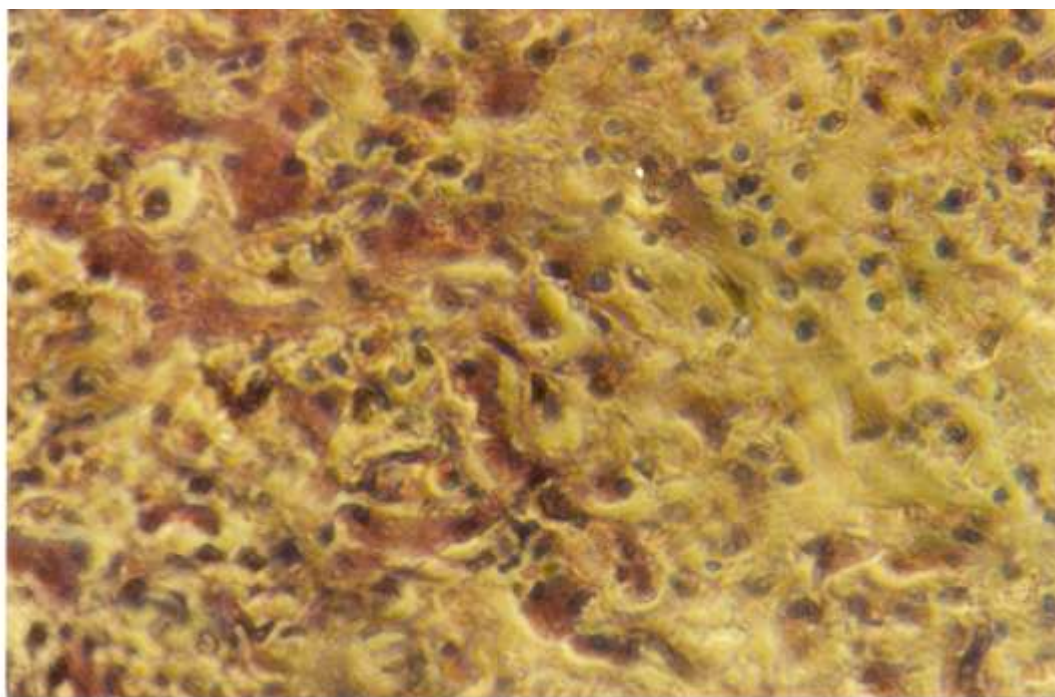


Рис. 4.4. Вогнище некрозу гепатоцитів при гігантоклітинному ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

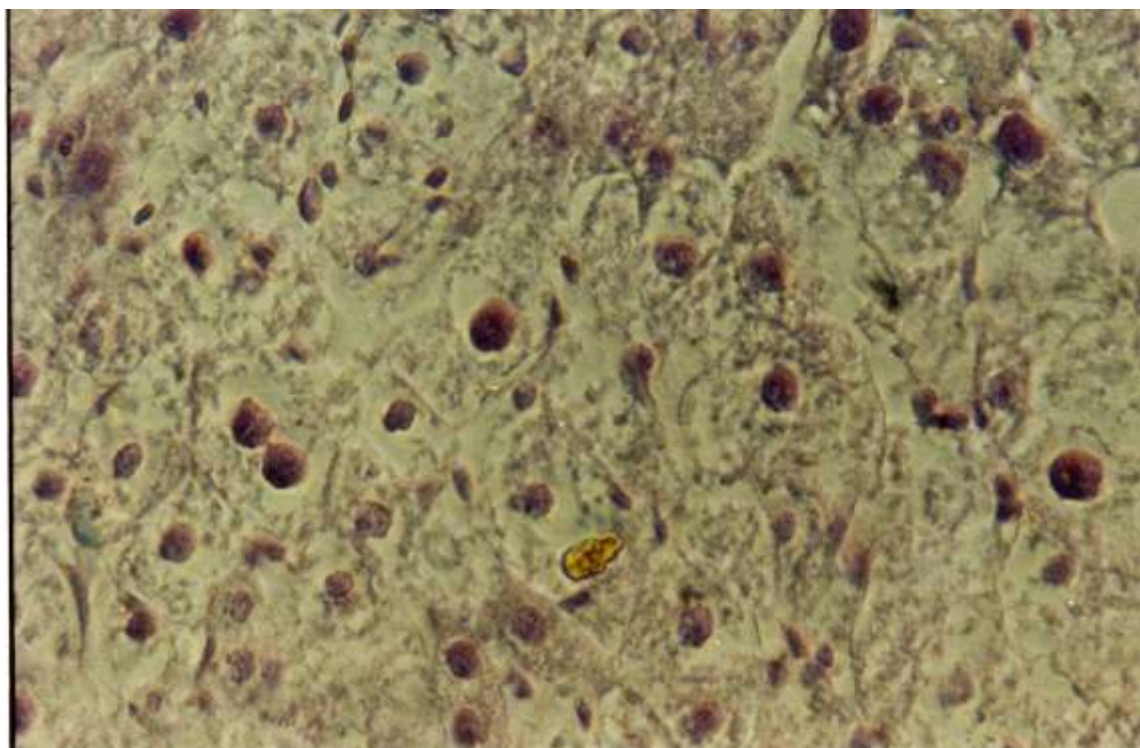


Рис. 4.5. Багаточисленні тільця Каунсильмена у вигнищі некрозу при гігантоклітинному ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

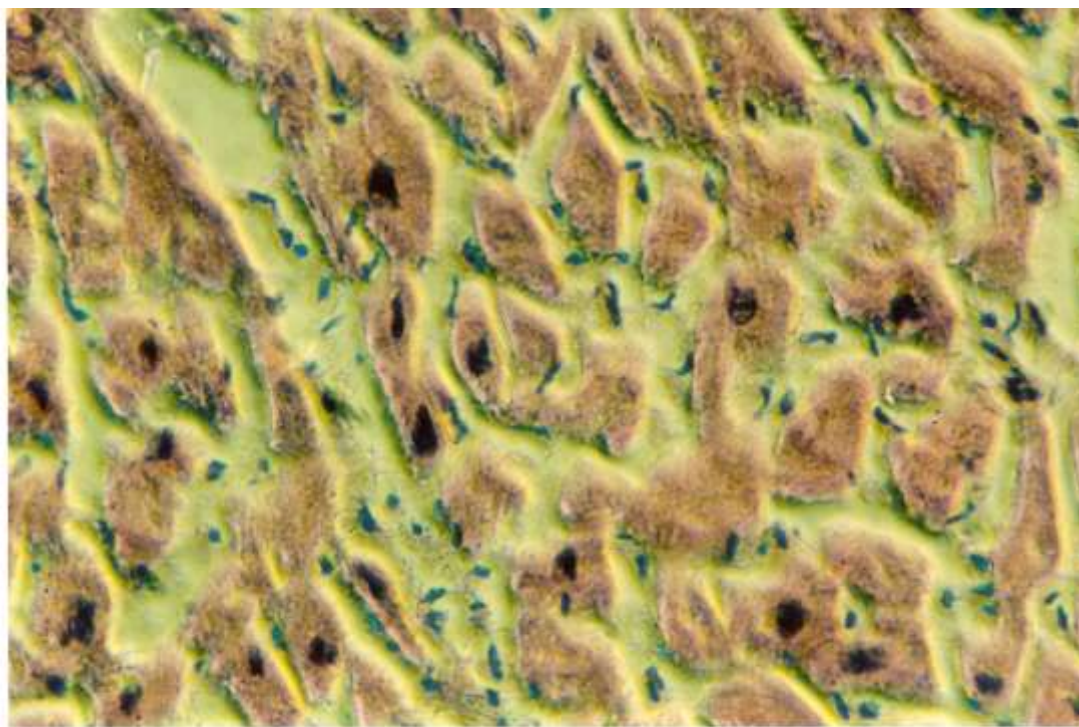


Рис. 4.6. Деформовані гепатоцити витягнутої форми з деформованим ядром роз'єднані набряковою рідиною. Проліферація та набухання клітин Купфера при ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.



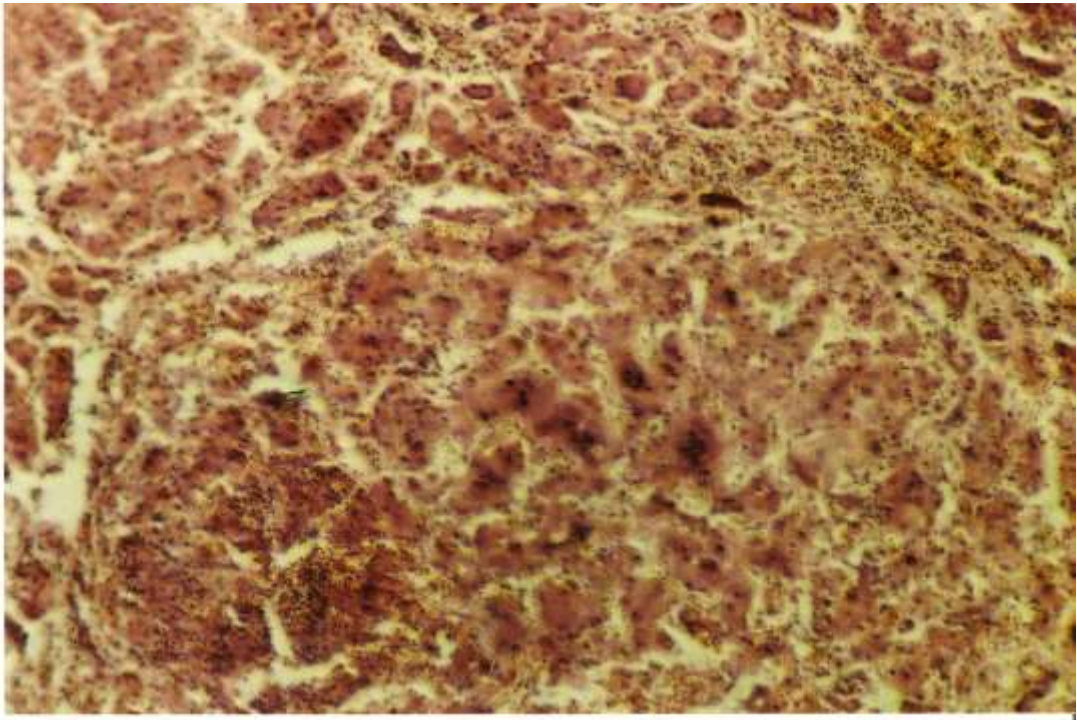


Рис. 4.7. Внутрішньопечінковий нерівномірний холестаз на тлі дифузного набряку та запальної інфільтрації портального шляху. ВГ неуточненої етіології. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

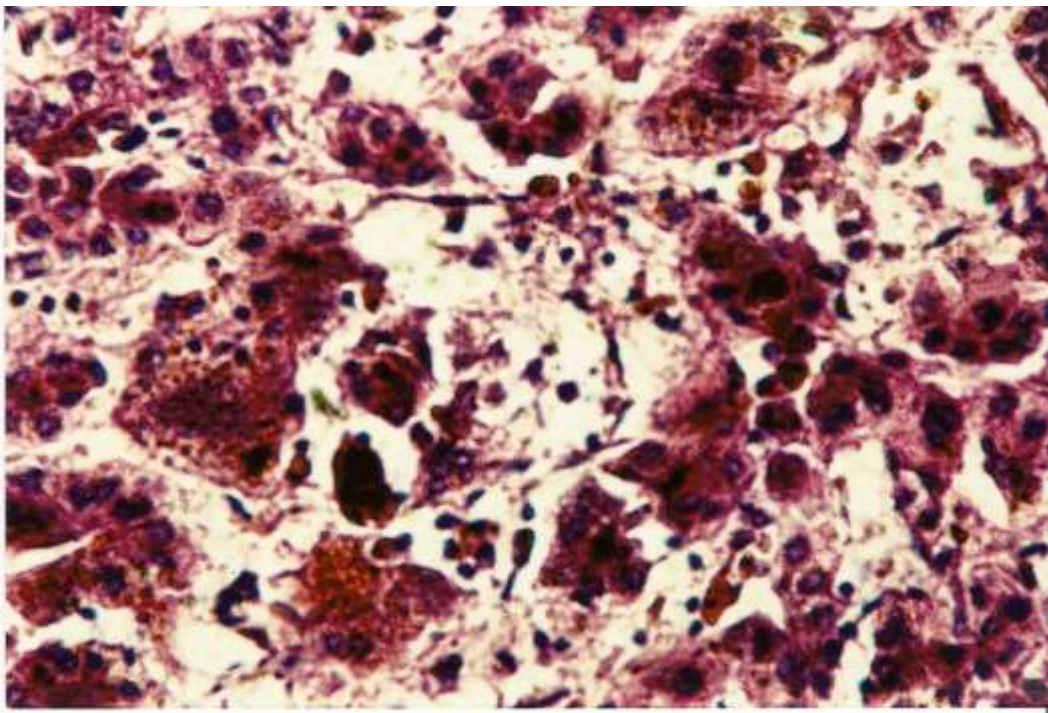


Рис. 4.8. Накопичення білірубiну в гігантських гепатоцитах, розширення просторів Дiссе, накопичення в ПКМ фрагментів зруйнованих клітин. Цей самий випадок. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

При гігантоклітинних ВГ трапляються великі вогнища некрозу з геморагічним просочуванням та особливо виразною запальною реакцією (рис.4.9). За системою METAVIR некрозапальні процеси в усіх випадках відповідають А3. Загалом етіологія та патогенез гігантоклітинної трансформації гепатоцитів у дітей на сьогоднішній день з'ясовані недостатньо. Має місце лише констатація факту, що гепатити з подібними змінами мають несприятливий перебіг з летальним наслідком, часто розвиваються у дітей на тлі вродженого імунодефіциту.

На основі поєднання гігантоклітинної трансформації гепатоцитів з більш чи менш виразним внутрішньочасточковим холестазом можна запідозрити певну його роль у даному процесі, особливо коли порушується синтез і метаболізм жовчі на рівні гепатоцит-біліарний епітелій. Одним із етіологічних та патогенетичних чинників, що стимулює гігантоклітинну трансформацію гепатоцитів може бути білірубіновий складж в дрібних жовчних протоках та внутрішньоклітинний білірубіностаз.

При фульмінантному перебігу з летальним наслідком ВГ у дітей раннього віку в печінці гістологічно виявляються різної широти геморагічні екстравазати без гемосидерозу, а також проліферація поодиноких внутрішньочасточкових жовчних дуктул (рис. 4.10).

У деяких випадках фульмінантний перебіг ВГ В проявився на тлі латентного формування цирозу печінки і, на наш погляд, був спровокований акцидентальною інволюцією тимуса у III-IV фазі. Особливістю випадку є не тільки вогнищева гігантоклітинна трансформація гепатоцитів з анізоцитозом, анізонуклеозом, а і розвиток великих, що охоплює багато часточок вогнищ некрозу з автолізом гепатоцитів, колапсом стромы та формуванням широких портальних шляхів. Особливістю випадку є і те, що стромально-судинна запальна реакція практично відсутня. Ні проліферації клітин Купфера, ні кілінгу некротично і апоптично змінених гепатоцитів, таких характерних для ВГ В, не спостерігалось. Запальна інфільтрація траплялась рідко у вигляді непоширених скупчень нейтрофільних лейкоцитів.



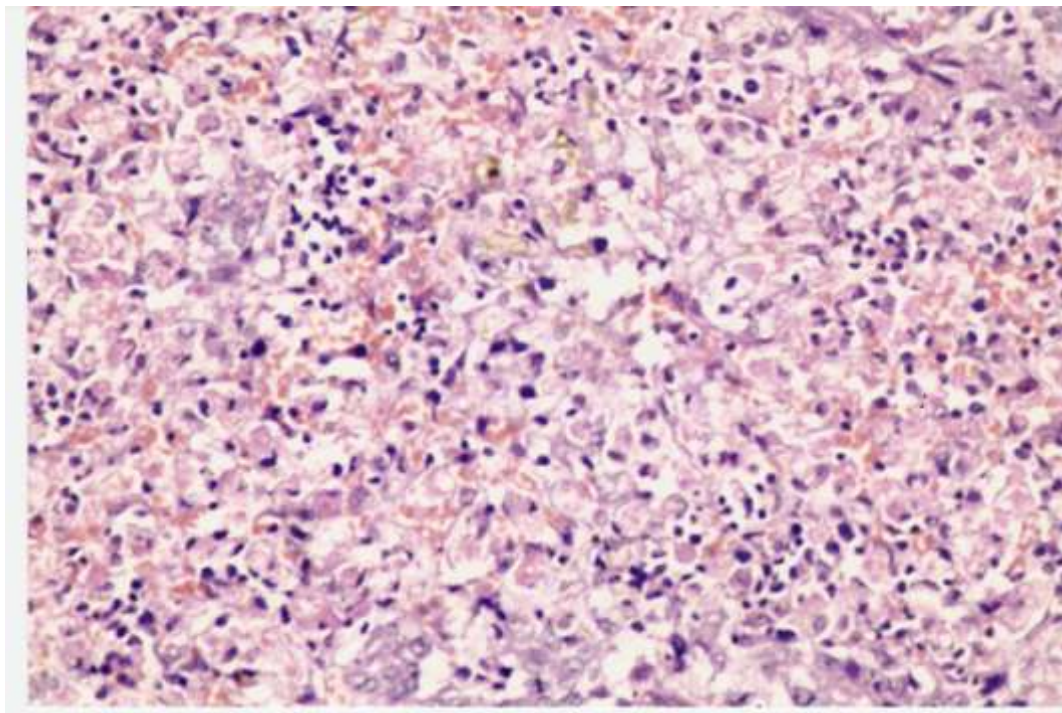


Рис. 4.9. Великі вогнища некрозу з геморагічним просочуванням та особливо виразною запальною реакцією. Гігантоклітинний ВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

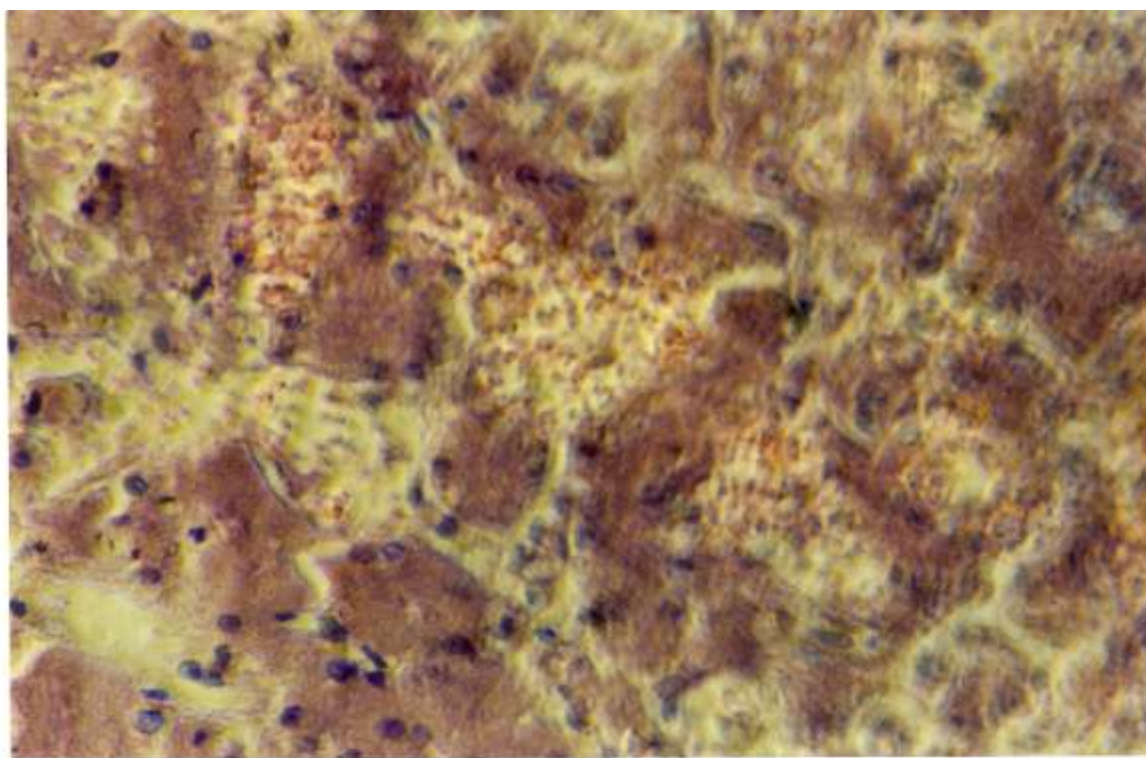


Рис. 4.10. Геморагічний екстравадат з проліферацією жовчних дуктул всередині часточки. Цей самий випадок. Гематоксилін-еозин. х 400.

Характерним у даному випадку був розвиток множинних мультилобулярних некрозів, які подібні до ішемічних (рис. 4.11). Слід підкреслити, що за гістологічними ознаками великі осередки некрозу розвивались неодноразово. Трапляються великі поля аутолізу некротизованих клітин паренхіми печінки з колапсом строми та вогнищевою геморагічною інфільтрацією з повною втратою архітекτονіки та формуванням фіброзу. В таких полях спостерігалась особливо інтенсивна проліферація жовчних протоків різного калібру, які локалізувались безладно і відрізнялись нерівномірно вираженим перидуктальним лімфостазом (рис. 4.12). Просвіт таких проліферуючих жовчних дуктулів в основному не визначався. Лише в окремих жовчних протоках спостерігались ознаки білірубінового сладжу.

В окремих полях зору траплялись групи гепатоцитів з матово-склоподібною цитоплазмою та просвітленим у центрі вакуолізованим ядром з маргінальною концентрацією хроматину («пісочні» ядра) (рис. 4.13). Подібні зміни оцінюються як морфологічні критерії ВГ В. Поряд спостерігалась проліферація жовчних дуктулів, які за будовою нагадували дуктули Герінга і представлені тяжами витягнутих клітин із малою кількістю цитоплазми, без просвіту.

Нетиповим для ВГ В у даному випадку є повна відсутність регенерації гепатоцитів, натомість у ділянках колапсу строми і інтенсивного фіброгенезу без розвитку запальної інфільтрації відбувається формування постнекротичного цирозу печінки з пухлиноподібною регенерацією жовчних протоків дрібного калібру. Усі вказані особливості патогенезу та морфогенезу ВГ В у даної померлої на третю добу після госпіталізації дитини віком 3,5 місяця, на наш погляд, пов'язані із розвитком набутого імунодефіциту, зумовленого акцидентальною інволюцією тимуса.

Необхідно підкреслити, що всі випадки ВГ із фульмінантним перебігом з гігантоклітинною трансформацією і без неї у дітей першого року життя (в основному до 3,5 місячного віку) за даними протоколів розтину померлих спостерігались на тлі акцидентальної інволюції тимуса.



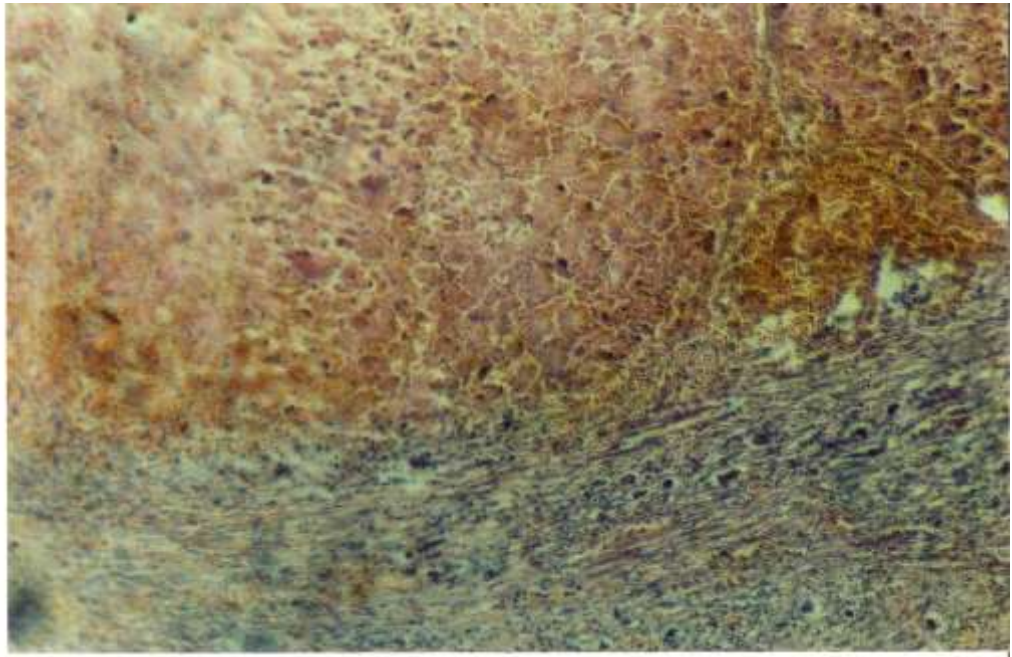


Рис. 4.11. Поширене мультилобулярне вогнище некрозу з перифокальним колапсом стромы без ознак регенерації та запалення. ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

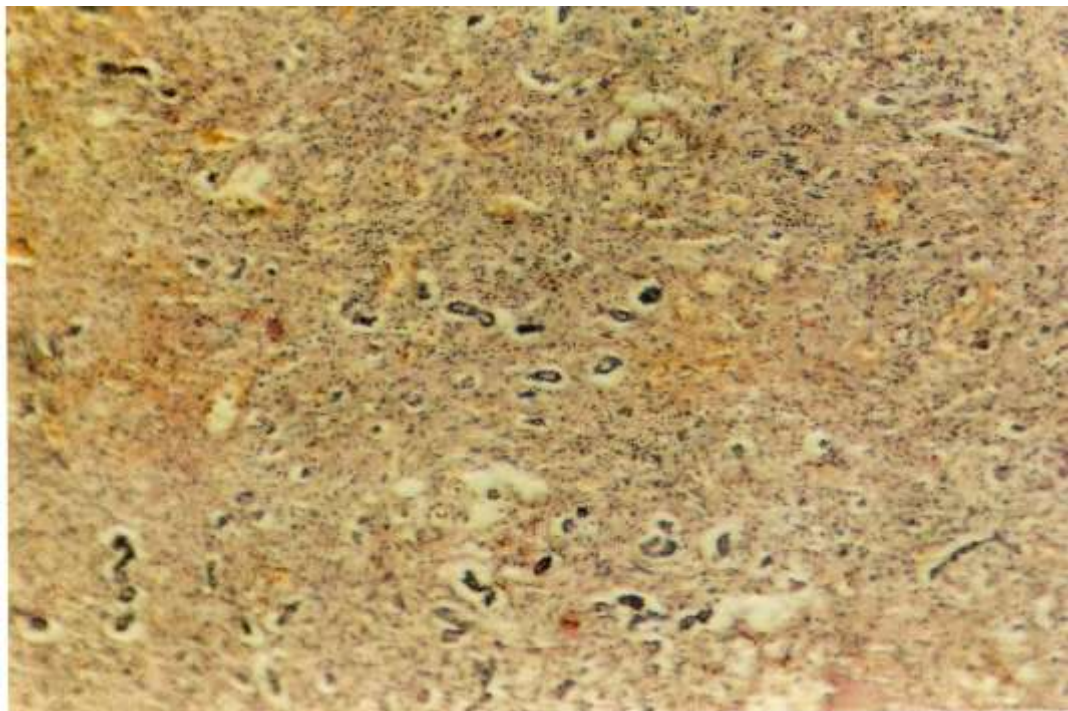


Рис. 4.12. Геморагічні екстравазати, набряк навколо проліферуючих жовчних дуктул з ознаками білі рубінового сладжу в широкому полі некрозу печінки. Той же випадок. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 100.



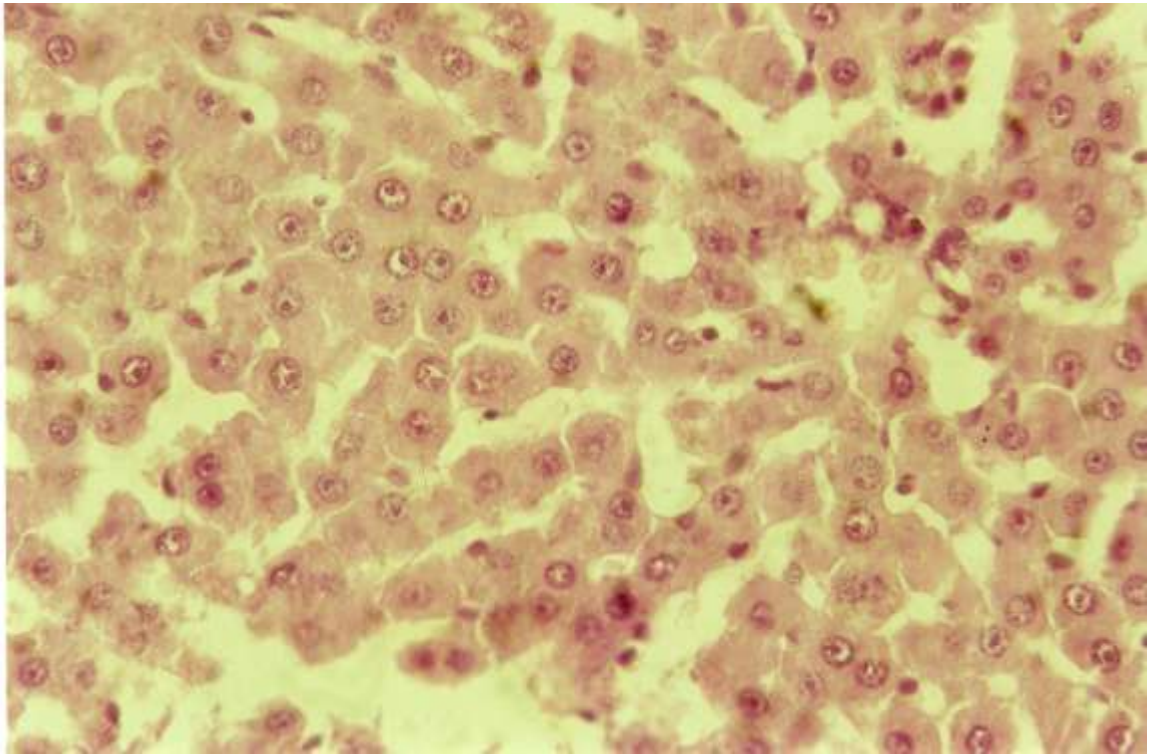


Рис. 4.13. Гепатоцити з гомогенною цитоплазмою та просвітленим вакуалізованим ядром, частково дезінтегровані набряковою рідиною, яка значно розширює просвіти синусоїдів. ВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

При гігантоклітинній реакції паренхіми печінки на HCV-інфекцію з фульмінантним перебігом неспецифічні морфологічні критерії, визнані більшістю морфологів на основі біопсійного дослідження печінки, теж виявлялись. Наприклад, білкова гідропічна дистрофія була виявлена у поєднанні з дрібновакуольною жировою при ВГ С з фульмінантним перебігом та гігантоклітинною трансформацією гепатоцитів, на тлі помірного набряку з дисконкомплексацією балок, помірного холестазу (рис. 4.14).

Таким чином, за результатами гістологічного дослідження печінки дітей, померлих від ВГ з фульмінантним перебігом, можна констатувати, що у переважній кількості випадків спостерігається гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка може бути різною за етіологією, патогенезом, морфогенезом, і вирішальну роль в її розвитку мають вікові особливості імунної, нейроендокринної систем у цьому віці.

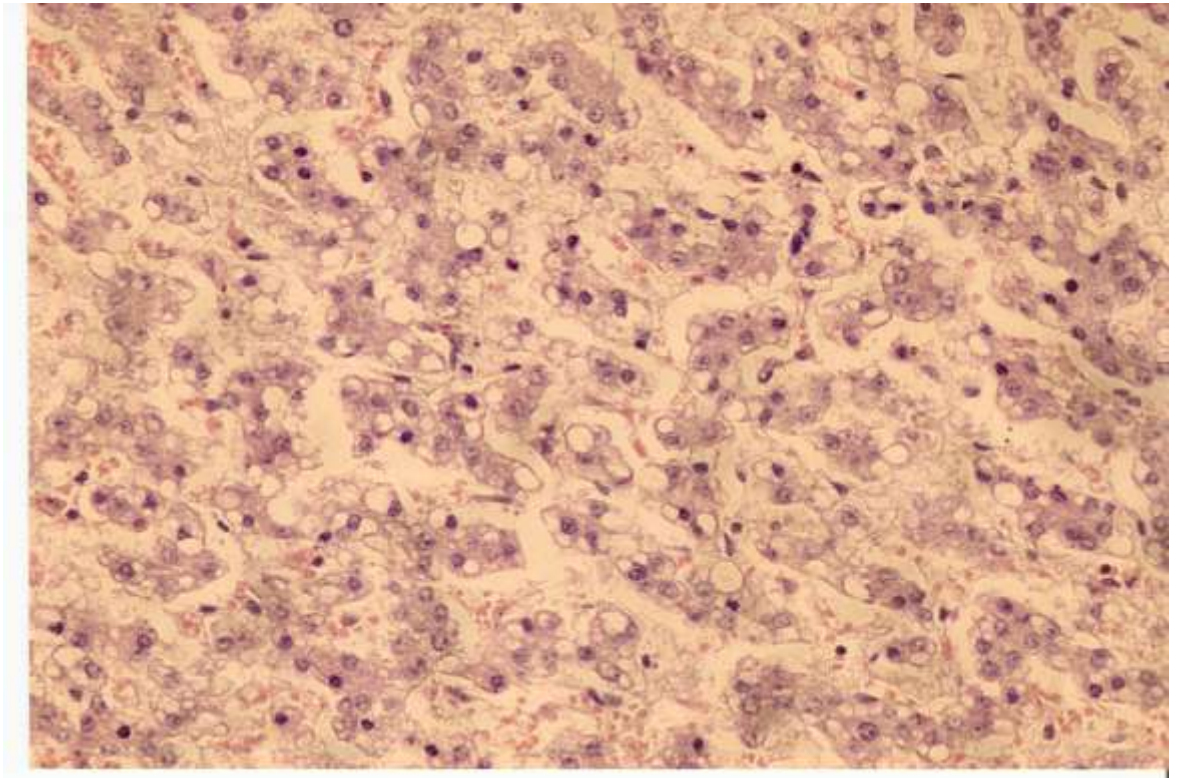


Рис. 4.14. Гідропічна та жирова дистрофії гепатоцитів на тлі помірного набряку. ВГ С. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200.

Гігантоклітинна трансформація гепатоцитів виявлялась і при більш пролонгованому та хронічному перебігу ВГ. Особливістю таких варіантів захворювань є розвиток перичелюлярного фіброзу. Деформовані великих розмірів або атрофовані гепатоцити з конденсованою цитоплазмою та декількома ядрами, які відрізняються від нормальних маргінальним розміщенням хроматину і просвітленим вакуолізованим центром («пісочними» ядрами), роз'єднані широким прошарком деструктуризованого ПКМ, в якому визначаються множинні хаотично розміщені фібрили колагену, фібробласти (рис. 4.15). Спостерігається часткове, іноді майже повне, заміщення паренхіматозних структурних елементів СТ, що теж є одним із патогенетичних механізмів прогресивності ВГ і спричиняє швидкий розвиток ЦП.

Характерною для померлих дітей в ранньому віці була «інтерфейсна активність», тобто перипортальні східчасті некрози. Найбільш помітними

вони були у тих випадках, коли часточкова будова паренхіми була сформована і міжчасточкова СТ добре означена. Крайова пластинка нечітка і пронизана імунокомпетентними клітинами: великими лімфоцитами, макрофагами, плазматичними клітинами, фібробластами, які без чіткої межі проникали в глибину часточок. По периферії часточок спостерігався колапс строми і формування пучків колагенових волокон. У просвіті синусоїд траплялись скупчення лімфоцитів у вигляді ланцюжків. Типовою була капіляризація синусоїд та перекалібровка їх в судини більшого діаметру (рис. 4.16).

На тлі поширеної гідропічної дистрофії, яка іноді поєднувалась із жировою дистрофією та розвитком перипортальних некрозів, спостерігались різні за характером та глибиною пошкодження жовчних протоків. Місцями вони проявлялись фібриноїдним некрозом стінки з вираженим набуханням холангіогенного епітелію, клітини якого злущувались і спричиняли звуження просвіту та розвиток холестазу. Навколо змінених жовчних протоків визначалась запальна інфільтрація з ознаками цитолізу (кілінгу) прилеглих дистрофічно та некротично змінених гепатоцитів (рис. 4.17). Вказані зміни супроводжувались розширенням портальних трактів за рахунок збільшення кількості колагенових волокон та проліферації дрібних дуктул, які за будовою та локалізацією нагадують жовчні протоки Геринга (рис. 4.18). Складається враження, що саме вони є тими камбіальними елементами, з яких починається регенерація жовчних протоків у портальних трактах. На відміну від вродженого первинного склерозу портальних шляхів та первинного холангіту, у дітей із ВГ подібні зміни носили нерівномірний фрагментарний характер (були непостійними).

Паралельно з проліферацією жовчних проток у портальних трактах всередині часточок також трапляється проліферація дрібних холангіол. Це відбувається на тлі загального набряку, геморагічних екстравазатів, дистрофії та некроаптозу гепатоцитів, інтенсивної проліферації зірчастих ретикулоендотеліоцитів Купфера та активного фіброгенезу, що підтверджує



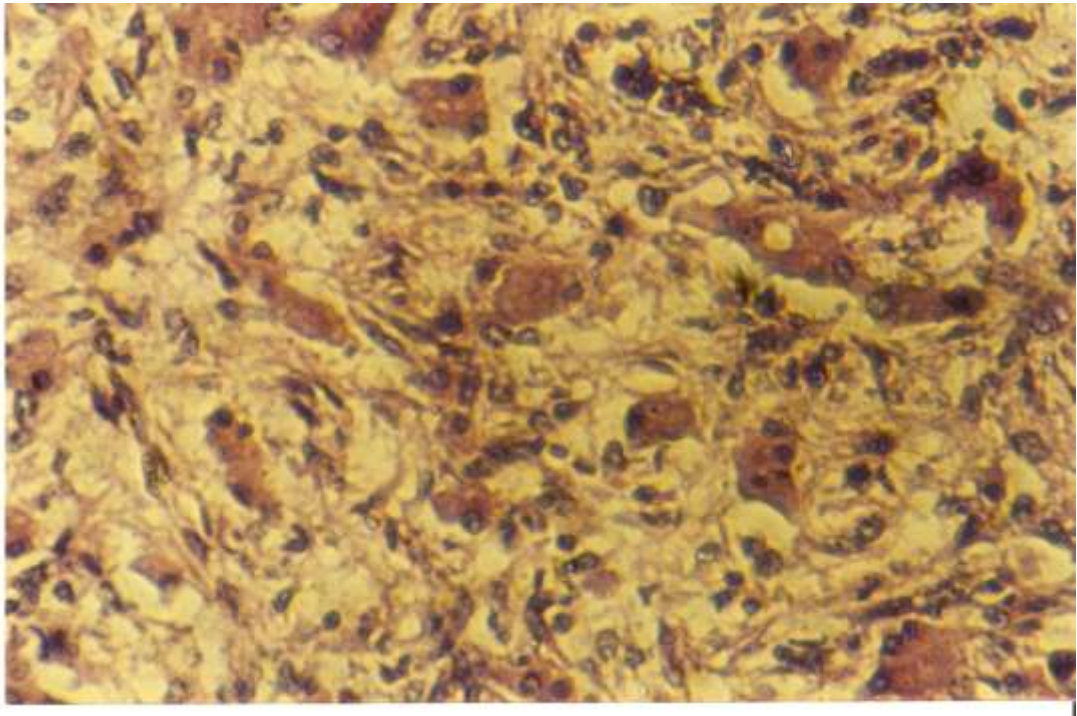


Рис. 4.15. Деструктуризація та розширення позаклітинного матриксу внаслідок проліферації міофібробластів, хаотичного новоутворення колагенових волокон та атрофії деформованих гепатоцитів. ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

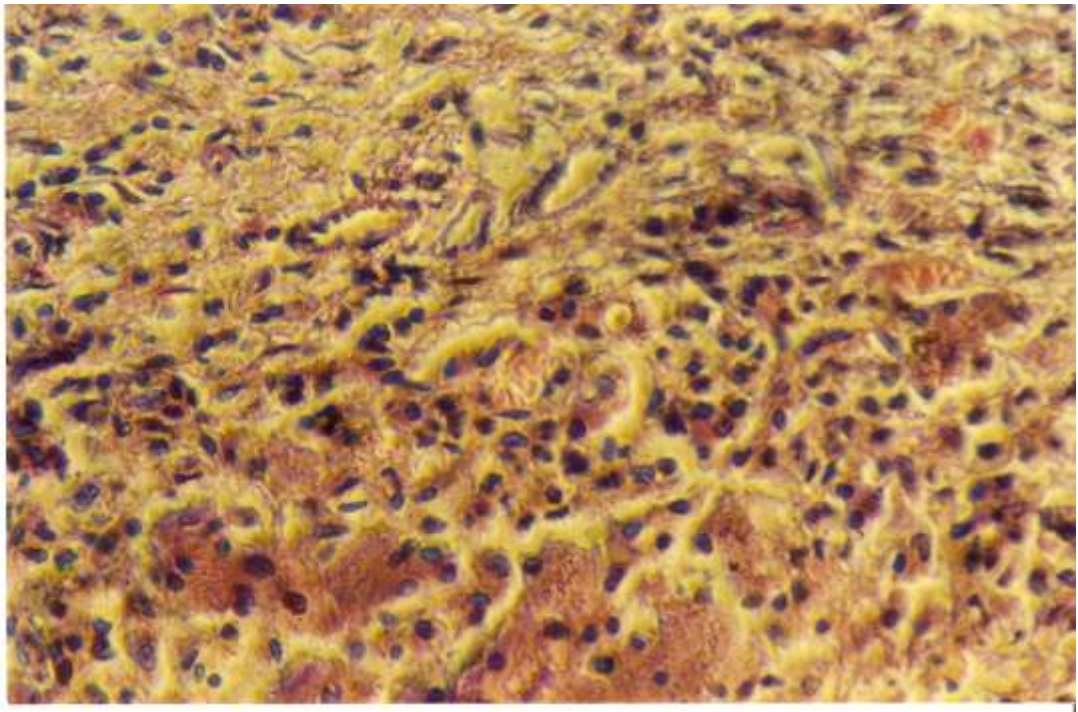


Рис. 4.16. Перипортальний східчастий некроз гепатоцитів з макрофагальною інфільтрацією. Проліферація кровоносних судин на межі часточок. ВГ В. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.



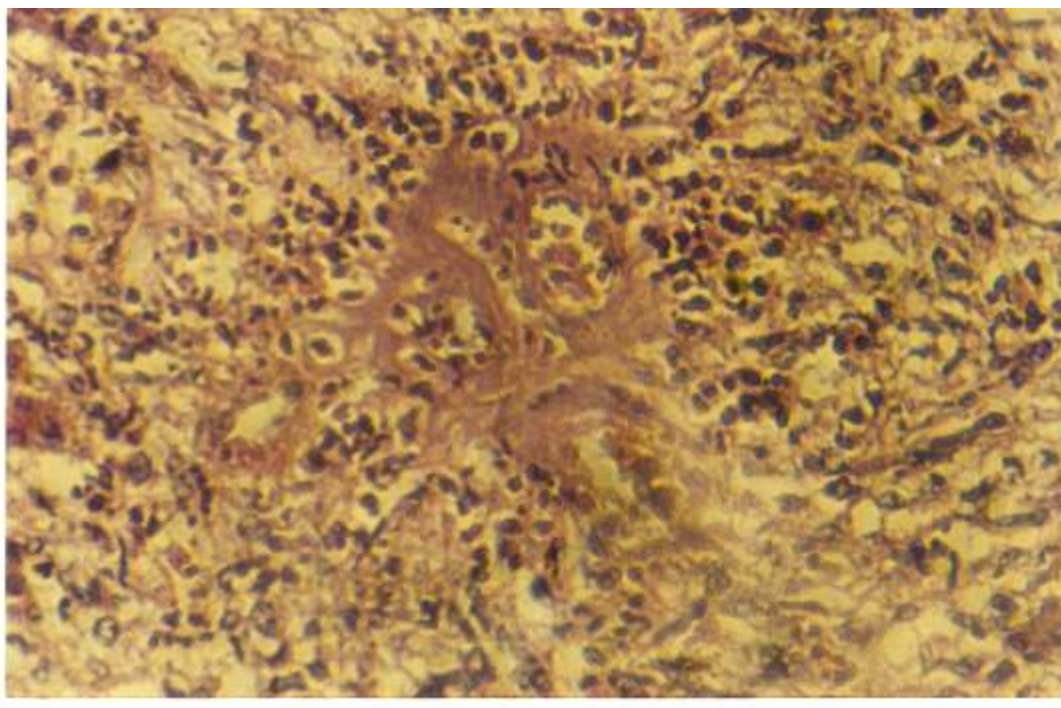


Рис. 4.17. Фібриноїдний некроз стінки жовчних проток з перифокальним запаленням. ВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

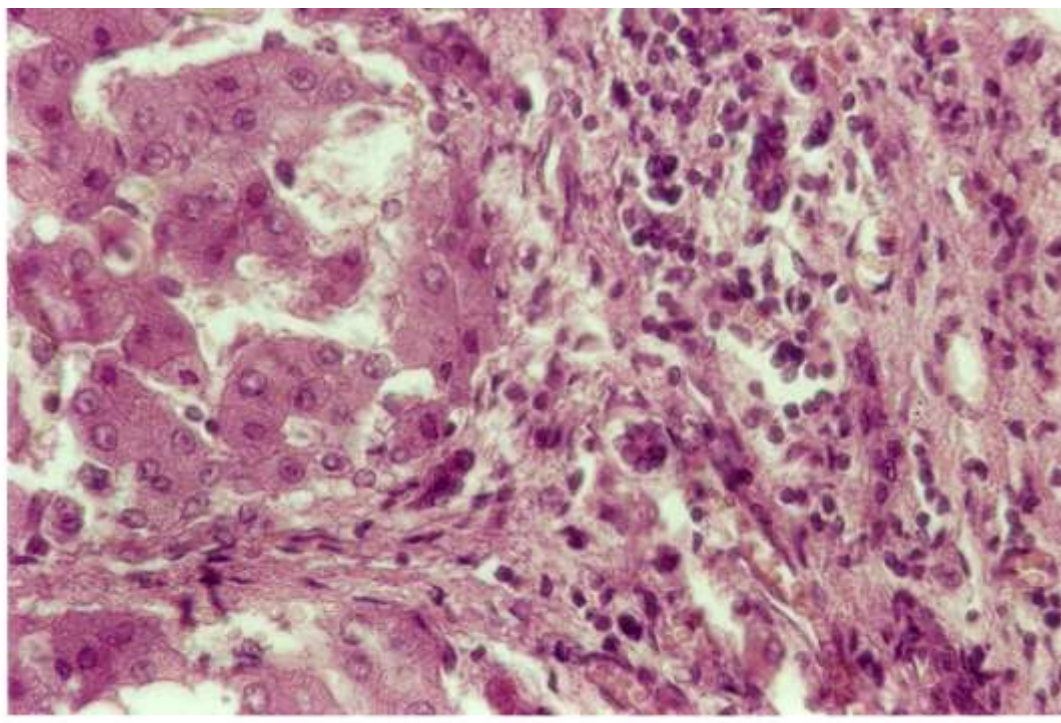


Рис. 4.18. Проліферація жовчних дуктул, які не мають просвіту, в перипортальних ділянках некрозу з колапсом строми. ВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

високу активність ВГ. В осередках склерозу портальних трактів, який і спричиняє облітерацію дрібних жовчних протоків, в перипортальних зонах часточок відбувається компенсаторна проліферація багаточисленних дуктул без просвіту, побудованих з кубічного епітелію з овальними, горизонтально орієнтованими, ядрами. На наш погляд, такий біліарний епітелій неспроможний виконувати основну функцію – продукувати і евакуювати жовч, а створює умови для розвитку ГЦК.

В окремих випадках у померлих дітей, віком до одного року, виявлявся особливо виразний імунний цитоліз гепатоцитів дифузного характеру, який спостерігався як у центрі часточок, так і перипортально (рис. 4.19). Така значна мобілізація імунокомпетентних клітин (лімфоцитів, макрофагів) безумовно являє собою ознаку високого ступеня активності ВГ і прогресивності захворювання. Сателітоз великої кількості ефекторних клітин передбачає цитоліз гепатоцитів з наступним активним фіброгенезом. Іноді кілінг носить вогнищевий характер, коли всередині часточок навколо гепатоцитів з «пісочними ядрами» або з ознаками апоптозу мобілізуються у великій кількості лімфоцити і інші імунокомпетентні клітини, з тенденцією до створення округлих інфільтратів без чітких меж, подібних до гранулеми або до тенденції і утворення лімфоїдних фолікулів (рис. 4.20). Вказані ознаки кілінгу та фіброгенезу свідчать про ранню хронізацію ВГ у дітей віком до одного року, що призвела до розвитку печінково-клітинної недостатності, і слугувала причиною летального наслідку.

Таким чином, при вертикальному інфікуванні дітей, зокрема вірусом гепатиту В, на тлі незрілості печінки відслідковується ряд морфологічних особливостей гепатиту, а саме: розвиток значного набряку органу, гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка може спричинити фульмінантний перебіг з летальним наслідком. Характерним для цього контингенту померлих дітей є переважання альтеративних змін (дистрофії та поширеного некрозу); можливі крововиливи та виразна запальна інфільтрація імунокомпетентними клітинами, що відповідає активності АЗ за системою



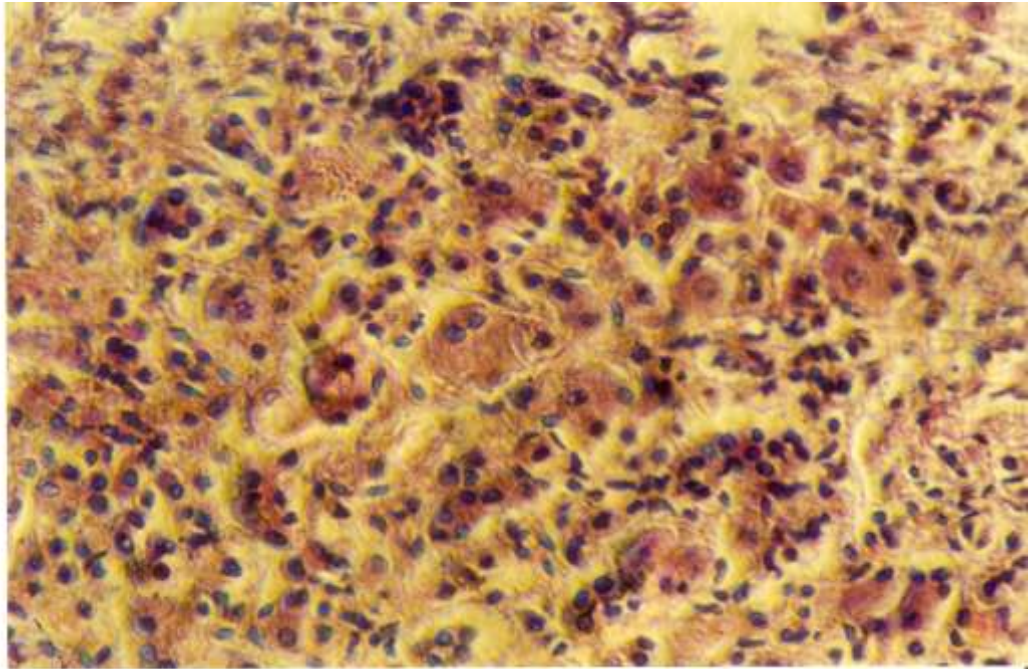


Рис. 4.19. Скупчення імунокомпетентних клітин навколо дистрофічно та некротично змінених гепатоцитів, що опосередковано може свідчити про кілінг. ВГ В. Зabarвлення гематоксилином і еозином. x 400.

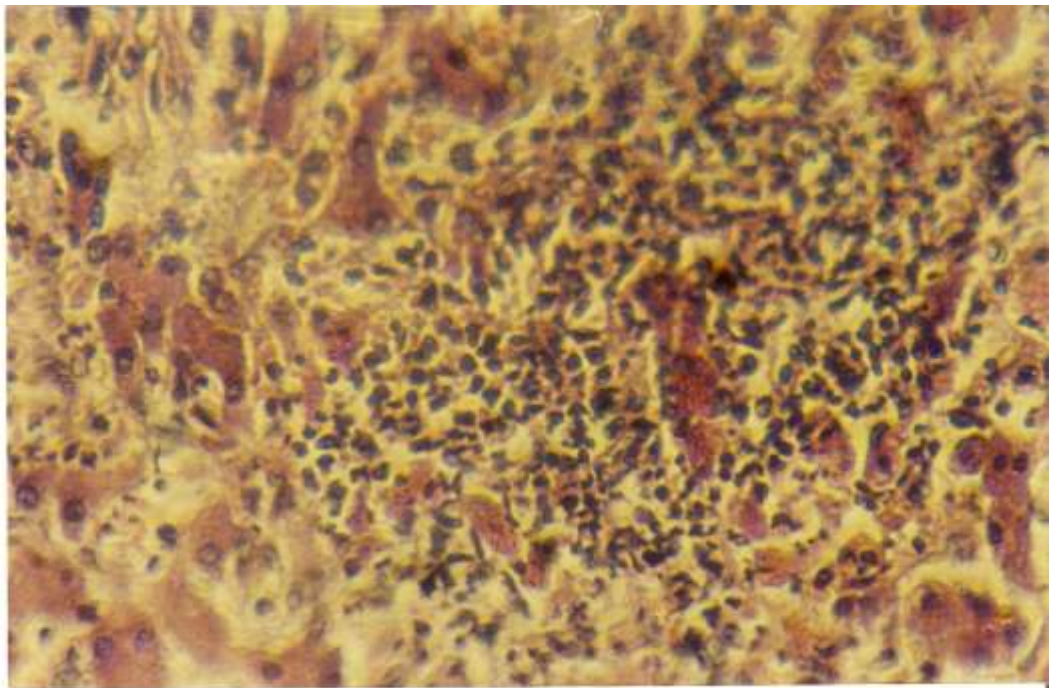


Рис. 4.20. Внутрішньочасточкова запальна інфільтрація, яка нагадує гранулему, при гігантоклітинному ВГ В. Зabarвлення гематоксилином і еозином. x 400.

МЕТAVIR. Незважаючи на нетривалий чи тривалий перебіг захворювання, відслідковується швидкий розвиток фіброзу, аж до формування ЦП. Предикторами активного фіброгенезу у дітей раннього віку є колапс стромы, активна запальна інфільтрація, крововиливи з гемосидерозом, ущільнення ПКМ та інші.

#### **4.2. Патоморфологія хронічних вірусних гепатитів В та С у підлітків**

Підлітковим, за даними ВООЗ, вважається вік від 10 до 18-20 років. В цей період завершується морфофункціональне формування всіх органів і систем. Під впливом статевих гормонів відбувається нейроендокринна перебудова та значні зміни в імунному статусі. У даному віці спостерігається нестабільність функціональних показників наднирників, підвищується імуносупресивний ефект глюкокортикоїдів, які, як і статеві гормони, стимулюють апоптоз лімфоцитів і пригнічують клітинний імунітет. Цей ефект підсилюється і внаслідок вікової інволюції тимуса. Саме тому, за даними деяких авторів [61, 98] підлітковий вік вважається одним із найбільш несприятливих періодів для розвитку патології і особливо для інфікування вірусами гепатиту з парентеральним шляхом передачі.

На Україні та в країнах ближнього зарубіжжя спостерігається стійка тенденція до погіршення здоров'я школярів-підлітків. Серед них поширюється алкоголізм, наркоманія, що створює умови для поширення вірусних гепатитів [90, 186, 214, 235]. У віковій структурі захворюваності на ХВГ переважають діти шкільного віку (84-85 %) з тенденцією до переважання підлітків. Латентний перебіг даної вірусної інфекції та хронізація патологічного процесу уподібнює її до «повільних» інфекцій і свідчить про тривалу компенсацію функціонального стану печінки при даній патології [17, 27, 49, 55].



Не дивлячись на те, що у підлітків завершується дозрівання жовчовидільної системи, її моторна функція залишається нестабільною і може підвищуватись, або знижуватись. Швидкі зміни в будові тіла та метаболізмі сприяють підвищенню реактивності та зниженню резистентності організму, що може проявитись або низькою, або парадоксально високою реакцією на патогенні чинники зовнішнього середовища [108]. Названі фактори безумовно впливають на морфофункціональні прояви ХВГ у підлітків, особливості яких, на наш погляд, у науковій періодичній літературі висвітлені недостатньо. Причиною цього є і те, що у вітчизняній педіатричній практиці проведення біопсійного дослідження печінки має досить обмежений характер. Систематизоване наукове дослідження секційного матеріалу (некропсій) померлих від ХВГ підлітків дасть найбільш достовірні результати, підвищить проінформованість практикуючих лікарів стосовно особливостей патоморфології даної патології. В кінцевому результаті передбачається покращення прогнозування та вибору засобів лікування хворих на ХВГ підлітків, з урахуванням індивідуальних відмінностей організму кожного підлітка.

Ретроспективне гістологічне дослідження печінки, померлих від ХВГ підлітків (12-16 років), дозволило виявити надзвичайне різноманіття морфофункціональних змін індивідуального плану. На наш погляд, це пов'язано як з етіологічними, так і патогенетичними факторами.

Вертикальне інфікування клінічно може маніфестувати пізно, тобто у підлітковому віці, коли в печінці розвиваються зміни незворотного характеру – цироз або ГЦК. Довготривала присутність вірусної інфекції в організмі дитини (персистенція при латентному перебігу) негативно впливає на імунітет, особливо на клітинну ланку, яка і в нормі пригнічується статевими гормонами, інволюцією тимуса та іншими чинниками.

Не виключається нашарування вродженої недосконалості печінки типу гемахроматозу, ферментопатій та набутого впливу алкоголю, ліків, наркотиків.

Враховуючи можливість негативного впливу вище названих кофакторів при гістологічному дослідженні некропсій печінки померлих від ХВГ з гепатоцелюлярною недостатністю, ми, в першу чергу, спрямовували увагу на виявлення загальноновизнаних морфологічних маркерів ВГ В і С на предмет підтвердження діагнозу.

ХВГ В підтверджувався наявністю зернистої дистрофії, «матово-склоподібних» гепатоцитів з просвітленим вакуолізованим ядром («пісочні ядра»), в якому спостерігалась маргінальна локалізація хроматину. Іноді такі гепатоцити розташовувались компактно, а іноді були дезінтегровані набряковою рідиною, що можливо при загостренні захворювання, або впливі сторонніх факторів.

Позаклітинно та в окремих клітинах Купфера траплялись скупчення у вигляді зерен та глибок гемосидерину. Іноді траплялась різної глибини гідропічна дистрофія, аж до розвитку незворотної «балонної» дистрофії та некрозу гепатоцитів. Балкова орієнтація змінених клітин печінки в основному не порушувалась, але вогнищево суттєво звужувався просвіт синусоїдів, а ПКМ, в якому окрім клітинних елементів з'являлись волокнисті структури, ущільнювався. Місцями подібні зміни поєднувались із розвитком перичелюлярного фіброзу та венулиту з облітерацією просвіту центральних вен.

Паралельно зі змінами альтеративного характеру в окремих полях зору траплялись зміни, характерні для регенерації органу: багато гіпертрофованих та двоядерних на тлі атрофованих з дрібним ядром гепатоцитів, тобто виявлялись ознаки анізоцитозу та анізонуклеозу (рис. 4.21).

У померлих від ХВГ В, а часто й від гепатиту не уточненої етіології, визначаються такі маркери, як перипортальні некрози, найбільш постійні там, де спостерігається запальна інфільтрація портальних шляхів. В окремих випадках портальні шляхи були значно і нерівномірно розширені за рахунок лімфогістіоцитарної інфільтрації, яка не має чіткої межі і руйнує пограничну пластинку, розповсюджуючись на перипортальні зони часточок (рис. 4.22),

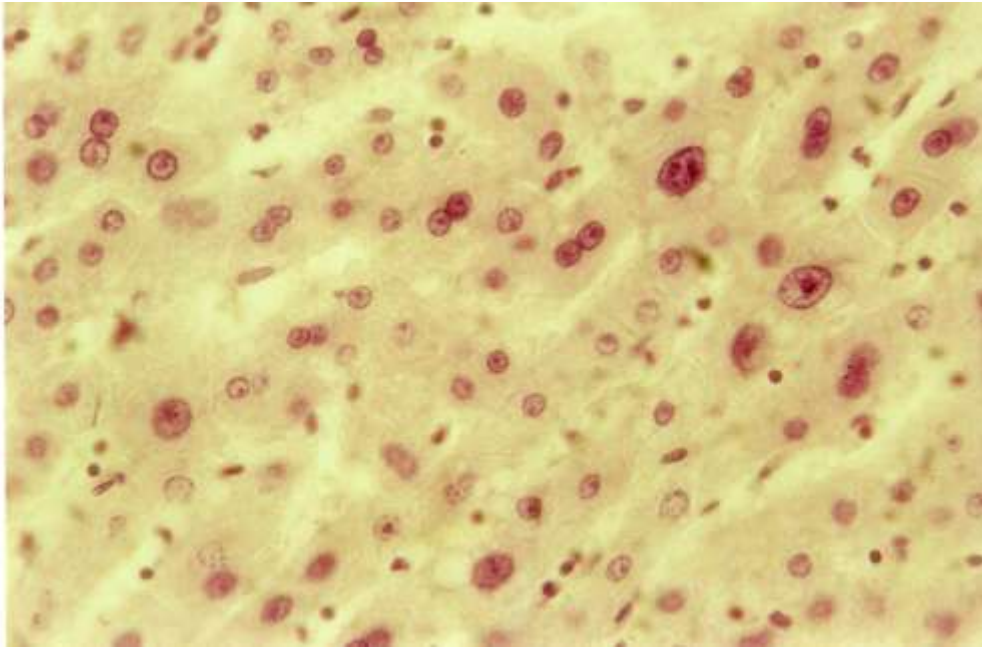


Рис. 4.21. Анізоцитоз, анізонуклеоз та численні двохядерні гепатоцити на тлі набухання клітин стромы. Підліток з ХВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

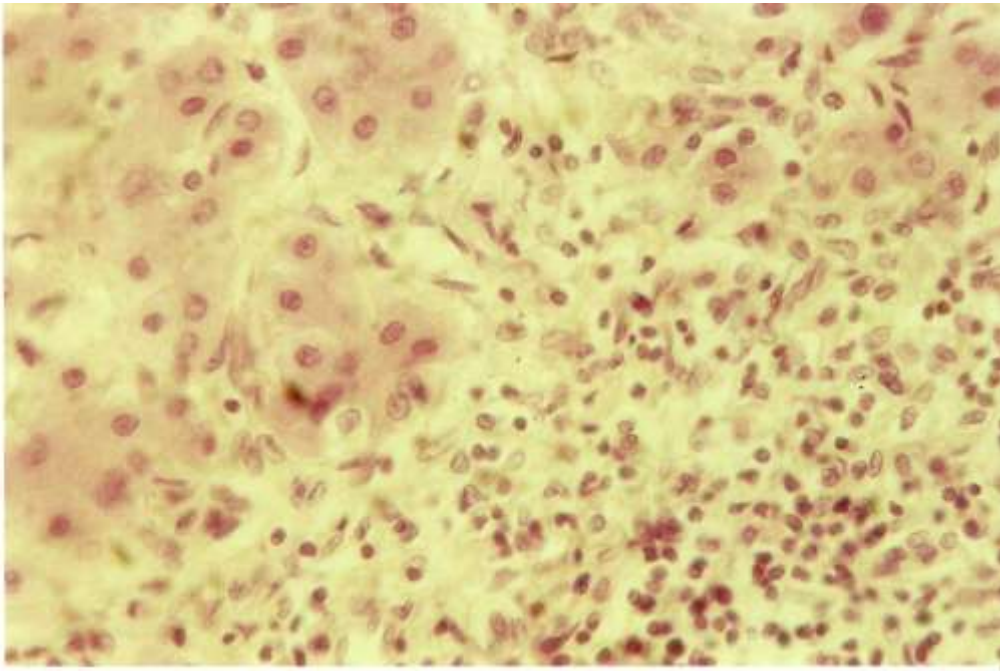


Рис.4. 22. Набряк та значна інфільтрація портального шляху з порушенням цілісності термінальної пластинки та розвитком перипортального некрозу. Підліток з ХВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

структура яких ще збережена, а склероз помірний. Але у більшості полів зору портальні шляхи склерозовані і інфільтровані переважно колагенсинтезуючими міофібробластами (рис. 4.23).

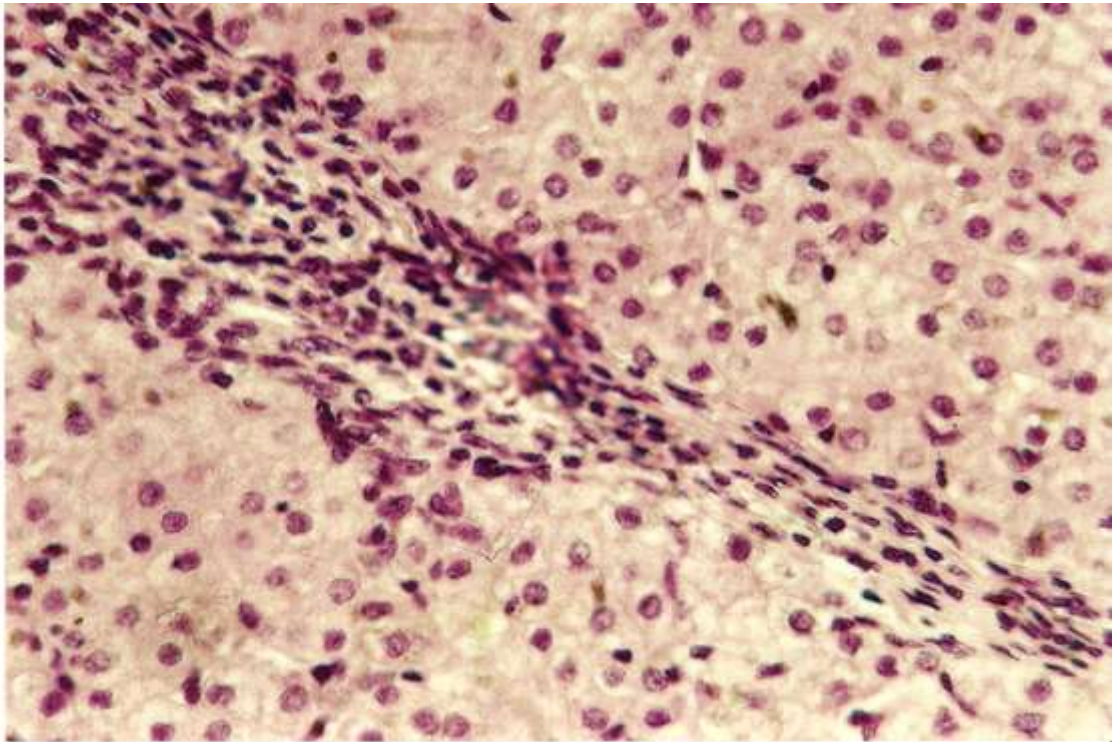


Рис. 4.23. Розширення портального шляху за рахунок набряку та проліферації переважно міофібробластів. Підліток з ХВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Від широких інфільтрованих портальних шляхів часто відгалужуються сполучнотканинні порто-портальні та порто-центральної септи, які фрагментують часточки і теж інфільтровані активними лімфоцитами. У гепатоцитах спостерігається глибока гідропічна дистрофія, некроз та патогенно індукований апоптоз гепатоцитів. Довкола них скупчуються великі (активні) лімфоцити та макрофаги, що можливо є ознаками кілінгу (рис. 4.24). При ХВГ В траплялася лімфоїдна інфільтрація всередині часточок у вигляді ланцюжків у просвіті синусоїдів. Іноді в портальних шляхах запальні лімфоцитарні інфільтрати були значними, спричиняли облітерацію кровоносних судин і проявляли тенденцію до утворення лімфоїдних фолікулів (рис. 4.25).



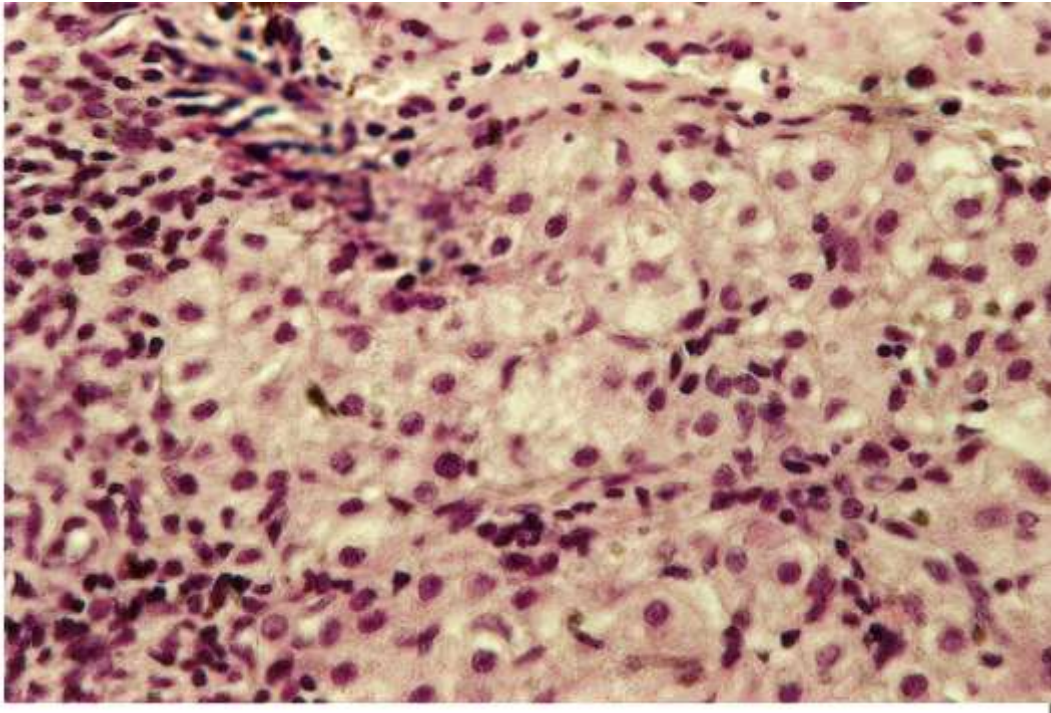


Рис. 4.24. Розгалуження сполучнотканинних септ, які руйнують архітектоніку часточки на тлі гідропічної дистрофії та некрозу гепатоцитів. Цей самий випадок. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.

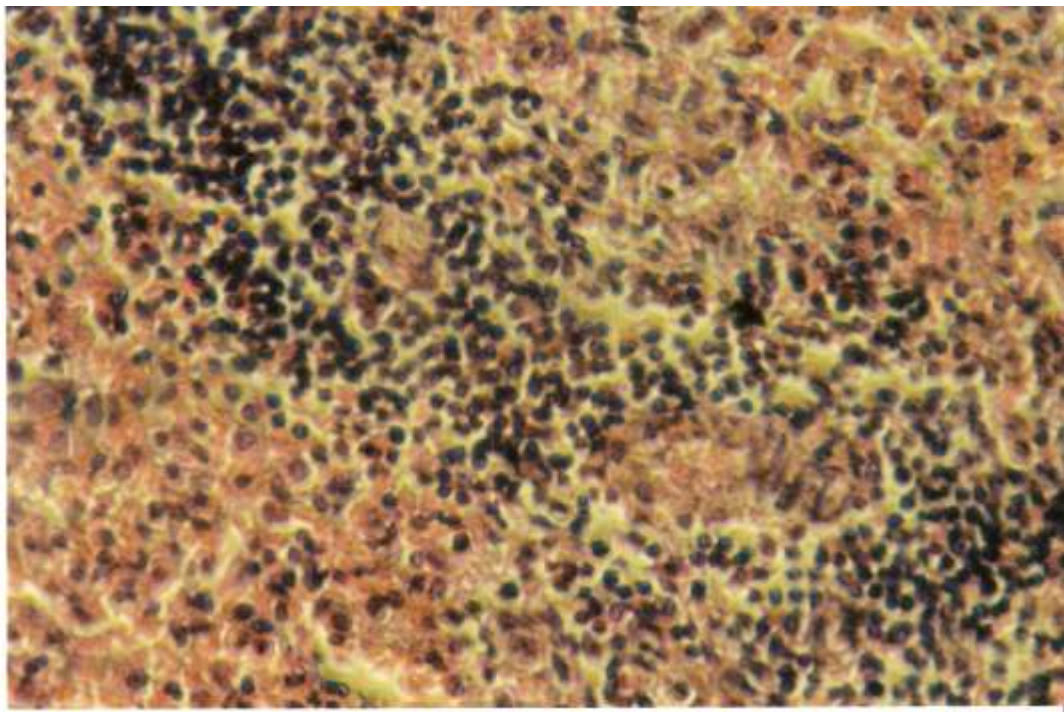


Рис. 4.25. Значна лімфоцитарна інфільтрація портального шляху без чіткої межі з тенденцією до формування лімфоїдних фолікулів. Підліток з ХВГ В. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.

У підлітка, померлого від ХВГ С, при гістологічному дослідженні печінки в портальних шляхах виявлені справжні лімфоїдні фолікули, від яких радіарно відгалужувались дрібні «сліпі» септи до оточуючої паренхіми. Навколо фолікулів місцями спостерігався перицелюлярний та перисинусоїдальний склероз у вигляді ніжних сполучнотканинних септ (рис. 4.26).

У паренхіматозних клітинах поряд з ознаками активної регенерації у цьому випадку мали місце зерниста та гідропічна дистрофії, зрідка некроз та апоптоз гепатоцитів, а також інфільтрати імунокомпетентних клітин навколо них, що передбачає процеси імунного цитолізу.

Поряд з описаними змінами портальних шляхів фрагментарно виявлено значний склероз з облітерацією просвіту усіх структур без запальної інфільтрації (рис. 4.27). Проте не дивлячись на чіткість межі портального шляху в прилеглих до нього гепатоцитах визначались глибока гідропічна дистрофія та некроз, характерні для ХВГ. В інших полях зору склероз портальних шляхів із значним периваскулярним склерозом поєднувався з запальною інфільтрацією, що порушує пограничну пластинку і розповсюджується на паренхіму часточок з ознаками гідропічної дистрофії та некрозу гепатоцитів (рис. 4.28).

Подібні зміни, безумовно, передбачають розвиток нерівномірної передсинусоїдальної гіпертензії в системі ворітної вени, з розвитком нерівномірного кровонаповнення та патологічних внутрішньопечінкових анастомозів.

Таким чином, гістологічне дослідження некропсії, померлого від ХВГ В підлітка, дає можливість заключити, що мав місце високий ступінь гістологічної активності альтеративних та запальних процесів, який за системою METAVIR відповідає показникам А3. Але локалізація і співвідношення альтеративних, проліферативних та склеротичних процесів були нерівномірними.



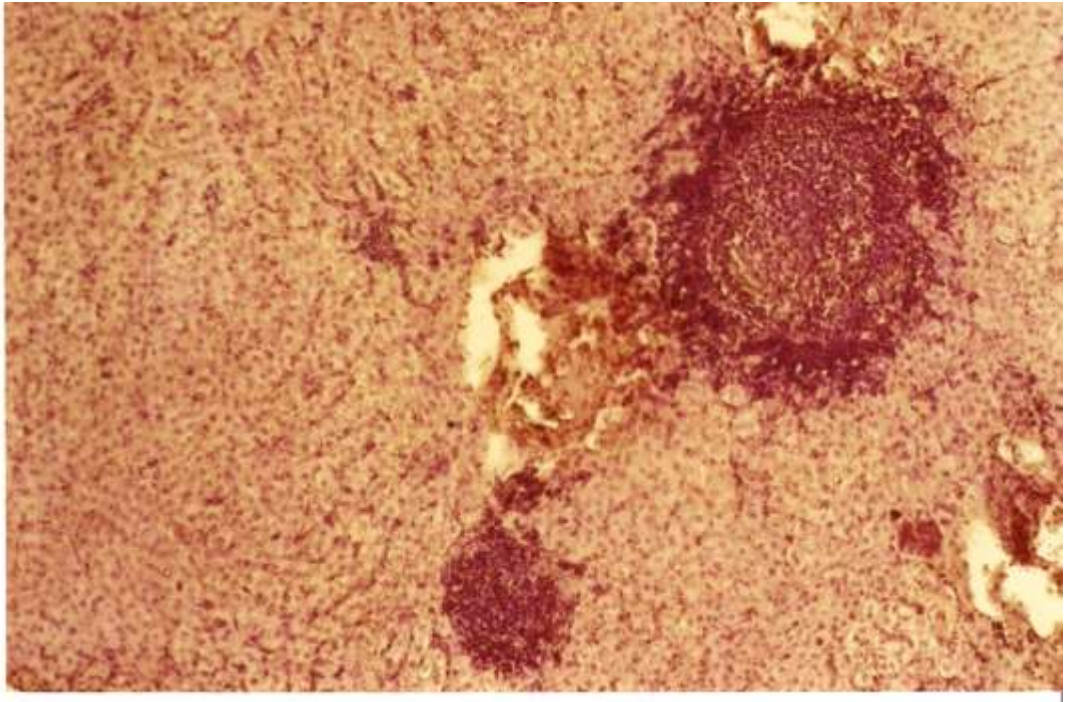


Рис. 4.26. Розвиток лімфоїдних фолікулів в портальному шляху на тлі перичелюлярного фіброзу та порушення архітектоніки часточок. Підліток з ХВГ С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

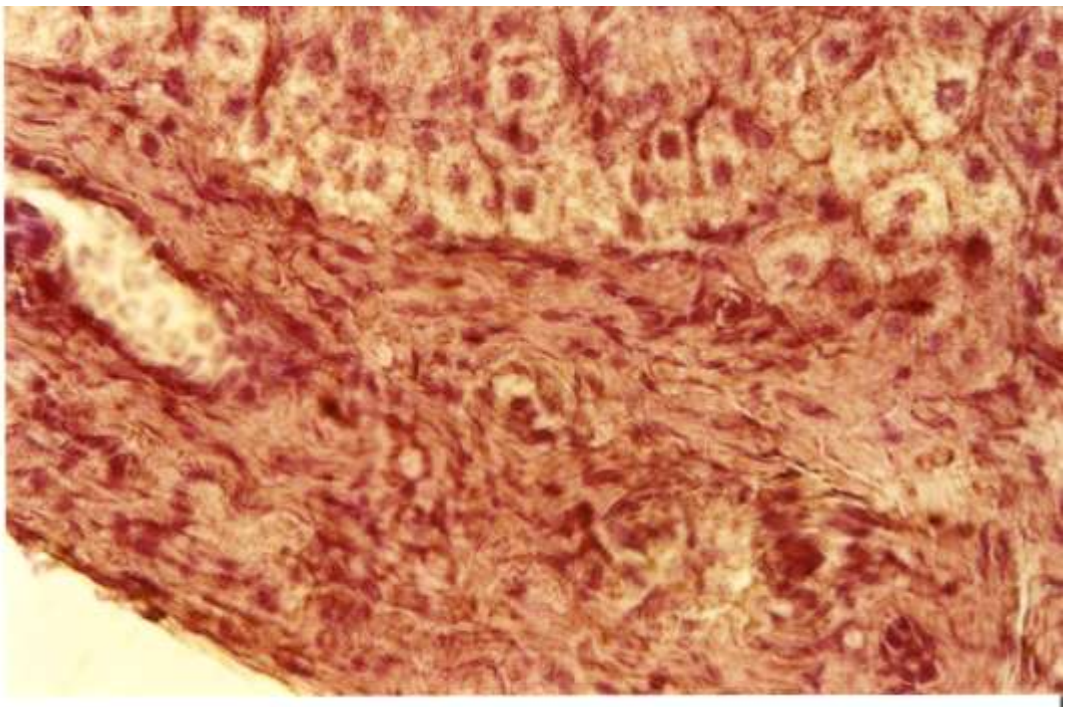


Рис. 4.27. Фрагмент портального шляху зі значним склерозом та облітерацією портальних структур без запальної інфільтрації на тлі гідропічної дистрофії гепатоцитів. Підліток з ХВГ В. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

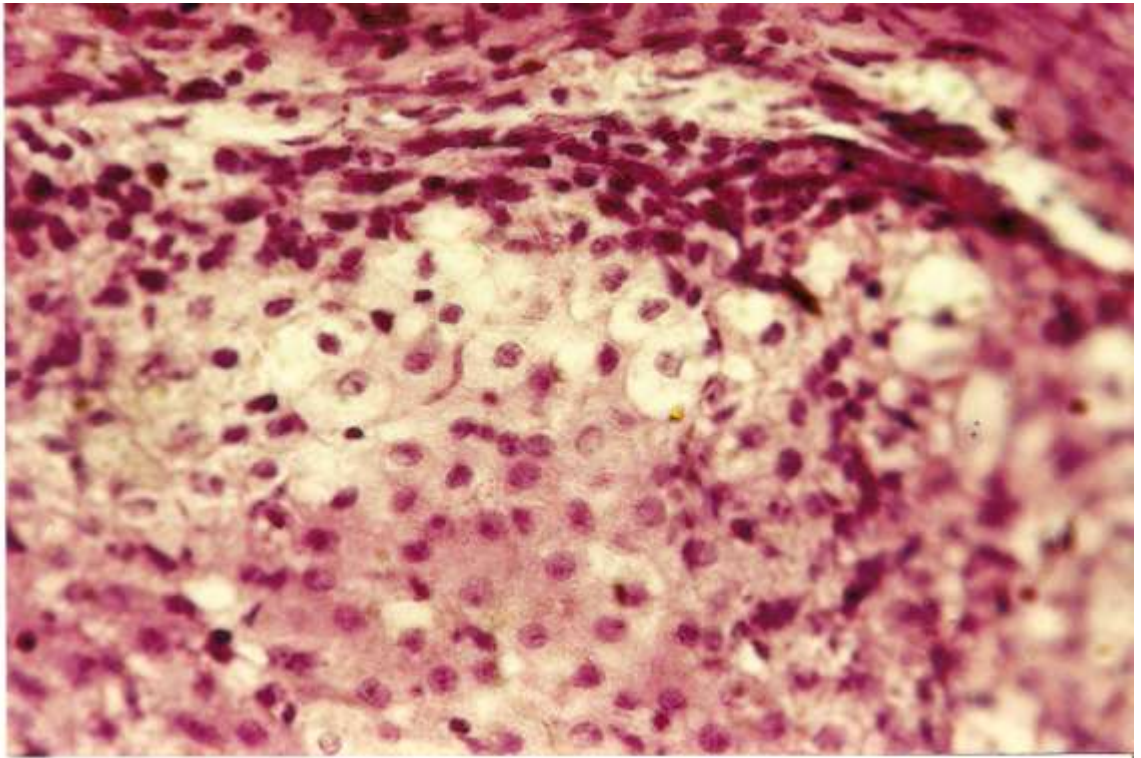


Рис. 4.28. Склероз портального шляху з запальною інфільтрацією, яка не має чіткої межі і розповсюджується на паренхіму часточки з розвитком перипортального некрозу. Цей самий випадок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

У печінці померлих підлітків від ХВГ С та ХВГ В+С гістологічно виявлялись характерні для даної етіології гепатитів морфологічні маркери. Таким є поєднання гідропічної (від помірної до балонної) та жирової дистрофії, які спостерігались у різних співвідношеннях як за глибиною, так і за поширенням (рис. 4.29).

Що стосується некрозу, то він виявлявся постійно і часто мав більш поширений характер ніж при ХВГ В. Суттєво пожвавлюється патогенно індукований апоптоз, що підтверджується виявленням тілець Каунсільмена, тобто апоптозно змінених гепатоцитів з виразною еозинофільною цитоплазмою та гіперхромним без чітких контурів ядром (рис. 4.30).



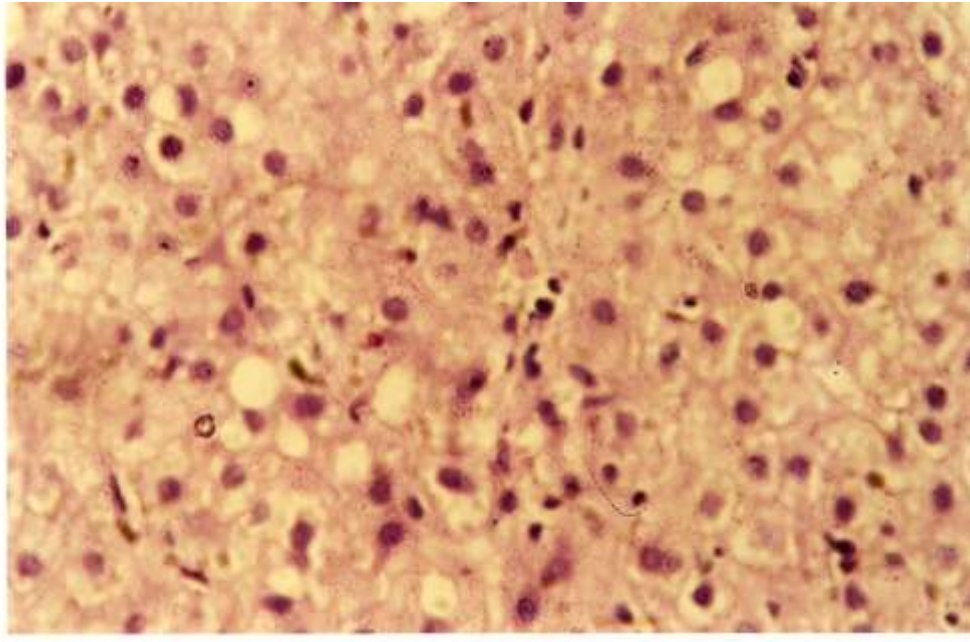


Рис. 4.29. Гідропічна, жирова дистрофія та некроз гепатоцитів з формуванням внутрішньочасточкової сполучнотканинної септи. Підліток з ХВГ С. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

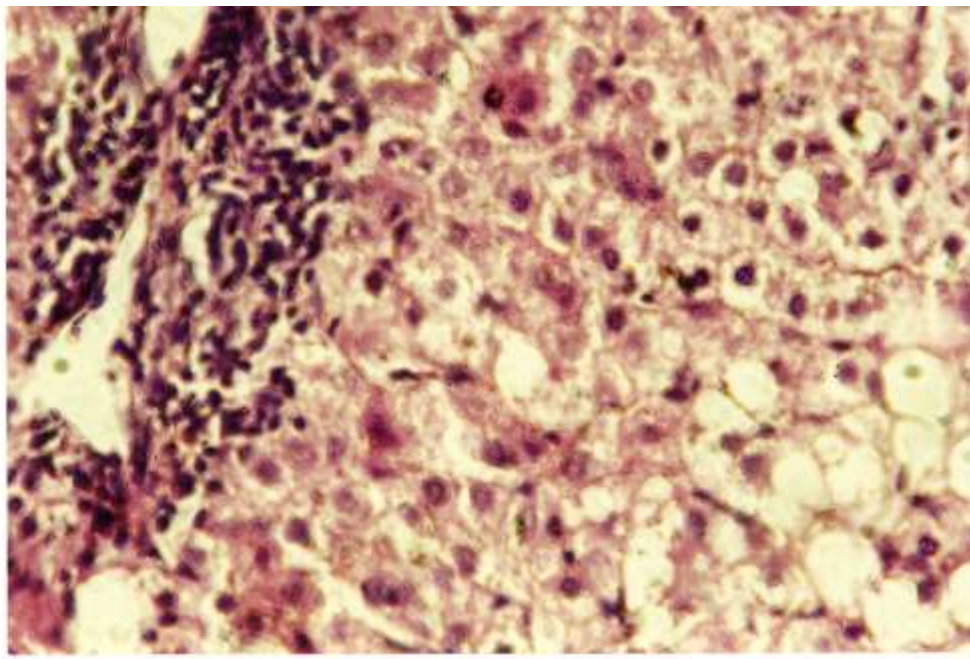


Рис. 4.30. Наявність еозинофільних тілець Каунсільмена та тлі білкової гідропічної і жирової дистрофії гепатоцитів та запальної інфільтрації портального шляху. Цей самий випадок. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Портальні шляхи, як і при ХВГ В, поширені за рахунок набряку, лімфостазу, іноді з варикозним розширенням лімфатичних судин, склерозу та інфільтрації імунокомпетентними лімфоцитами, макрофагами. Як правило, порушується цілісність пограничної пластинки часточок, інфільтрація розповсюджується всередину часточок та супроводжується лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією довкола ушкоджених гепатоцитів перипортальних зон. Але довкола гепатоцитів з крупно вакуольною жировою дистрофією подібна інфільтрація була незначною і не носила ознак кілінгу.

Від інфільтрованих портальних шляхів спостерігається відгалуження численних сполучнотканинних порто-портальних та порто-центральных септ, які іноді фрагментують часточки, спотворюють їх класичну будову. Цьому сприяють і процеси активної регенерації, яка морфологічно підтверджується наявністю мітотично змінених та двоядерних гепатоцитів (рис. 4.31).

Морфологічними особливостями ХВГ різної етіології у підлітків, як і у дітей раннього віку, є розвиток нерівномірного лімфостазу. Траплялись окремі поля зору, коли лімфою значно розширювався просвіт синусоїдів, що іноді спричиняло атрофію печінкових балок від тиску.

Рідко, у вогнищах дистрофії і некрозу траплялись крововиливи типу геморагічної інфільтрації (рис. 4.32), іноді з розвитком вогнищового гемосидерозу.

Некроз, запальна інфільтрація, лімфостаз, підвищення вмісту заліза – це ті патогенетичні фактори, які підтримують гіпоксію, посилюють процеси ПОЛ і сприяють швидкому прогресуванню фіброзу у дітей. За системою METAVIR фіброз портальних шляхів при ХВГ у підлітків відповідав F3-F4.

В одного підлітка, віком 16 років, хворого на ХВГ С, на тлі сформованого ЦП, ретроспективно діагностовано гепатоцелюлярну карциному, що представлено на (рис. 4.33).

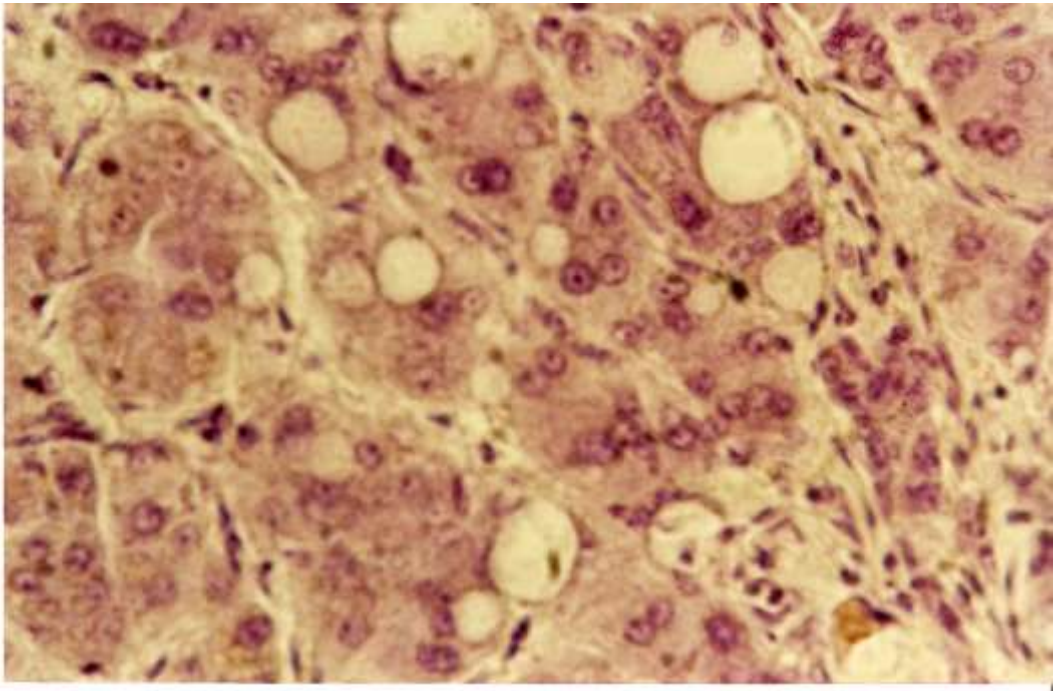


Рис. 4.31. Численні двоядерні гепатоцити, дезінтегровані перицелюлярними сполучнотканинними септами. Підліток з ХВГ В+С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

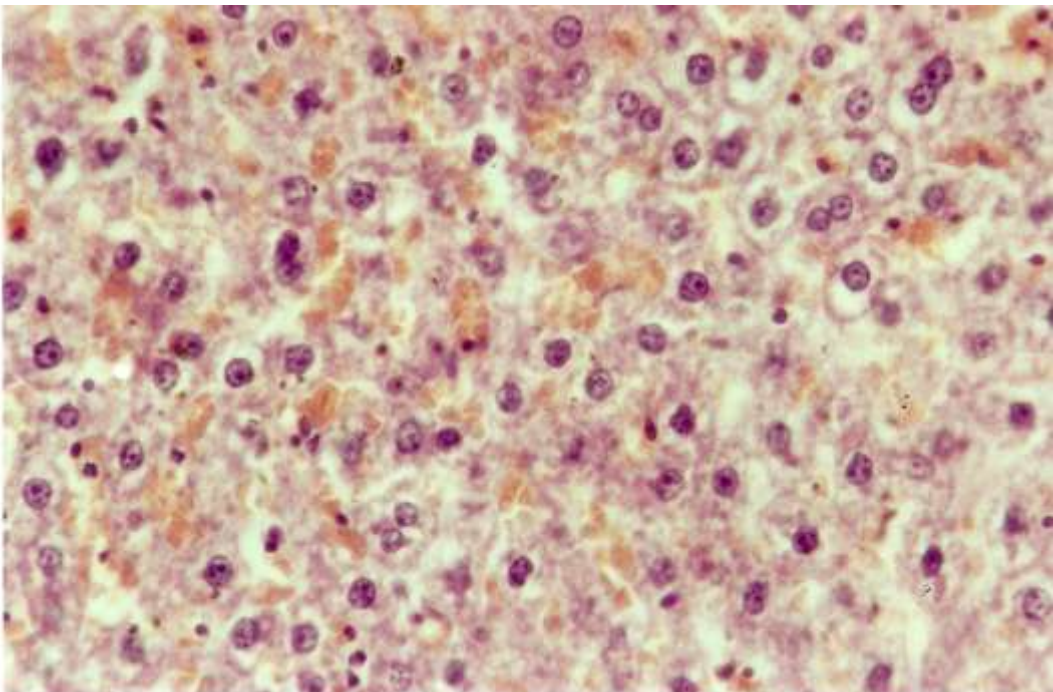


Рис. 4.32. Повнокрів'я та вогнищева геморагічна інфільтрації дистрофічно та некротично зміненої печінки. Підліток з ХВГ В+С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.



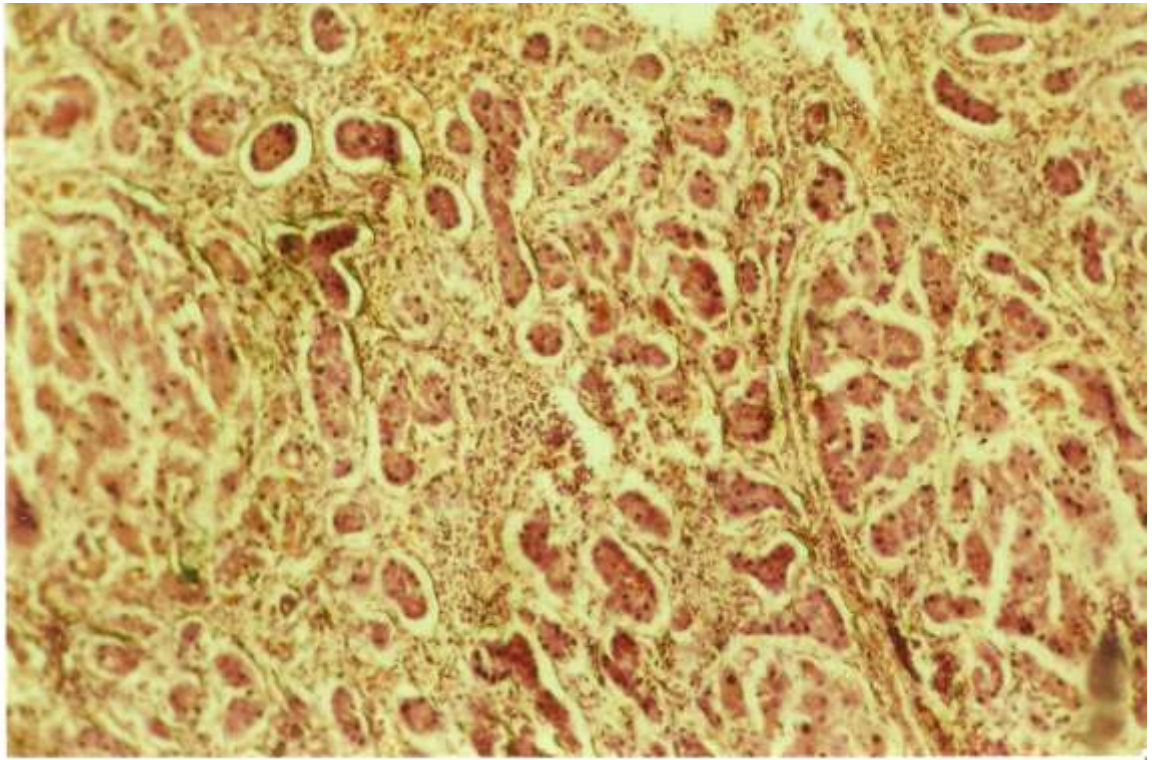


Рис. 4.33. Гепатоцелюлярна карцинома. Підліток з ХВГ С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

Вважаємо за необхідне підкреслити, що діагноз ЦП у підлітків теж не є однозначним. Гістологічна будова печінки при даному діагнозі може бути різною і відображати різне співвідношення морфологічних ознак притаманних даній нозології. А така ознака, як регенерація, взагалі потребує спеціального дослідження. Відповідно до сучасних уявлень джерелом регенерації гепатоцитів, як високоспеціалізованих епітеліоцитів, можуть слугувати самі диференційовані гепатоцити, які шляхом багатократного мітотичного поділу відновлюють масу, а іноді і функцію органу. У вогнищах масивного некрозу з колапсом строми, де диференційованих гепатоцитів практично немає, або у випадках виснаження мітотичної активності гепатоцитів (що можливо при дефіциті регуляторних цитокінових механізмів) регенерація переключасться на ті джерела, які в нормі мають обмежений характер. Так, наприклад, домінантною може стати регенерація

гепатоцитів із проміжних гепатобіліарних епітеліоцитів або із стовбурових клітин з утворенням структур, що нагадують каналці Геринга.

При ЦП вірусної етіології з високим ступенем активності, коли АЗ поєднується із F4, спостерігається висока регенераційна здатність гепатоцитів, що підтверджується гіпертрофією гепатоцитів та наявністю великої кількості двоядерних клітин. Новоутворені гепатоцити в таких умовах зазвичай втрачають балкову орієнтацію і утворюють крупні псевдочасточки (рис. 4.34). Іноді на тлі особливо значного і прогресуючого фіброзу печінки із фрагментацією часточок, в останніх спостерігається дрібно та крупновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів, а регенераторні процеси в паренхіматозних структурних елементах спроможні відтворити лише дрібні псевдочасточки (рис. 4.35).

Усі морфологічні особливості печінки при ХВГ та ЦП у підлітків безумовно залежать не тільки від етіології, але й від альтернативних джерел регенерації гепатоцитів, від гуморального та клітинного імунного впливу на альтеративні, ексудативні та проліферативні процеси, що відбуваються при даній патології у підлітків. Ці обставини необхідно враховувати при виборі адекватної терапії.

Отже, фіналом розвитку ХВГ у підлітків є ЦП та ГЦК, але клініко-морфологічні прояви даної патології потребують окремої індивідуальної оцінки для вибору адекватної терапії у кожного пацієнта.

Таким чином, в наших спостереженнях ХВГ В підтверджувався наявністю таких гістологічних маркерів, як матовосклоподібні гепатоцити з вакуолізованим ядром, гідропічна, іноді балонна дистрофія, а також вогнища перипортальних та централобулярних некрозів. У випадках ХВГ С та ХВГ В+С характерним було поєднання гідропічної, дрібно- або крупновакуольної жирової дистрофії та утворення тілець Каунсільмена (апоптозно змінених гепатоцитів з виразно еозинофільною цитоплазмою та гіперхромним без чітких контурів ядром). У просвіті синусоїдів траплялись ланцюжки лімфоцитів, а в портальних шляхах – лімфоїдні фолікули.



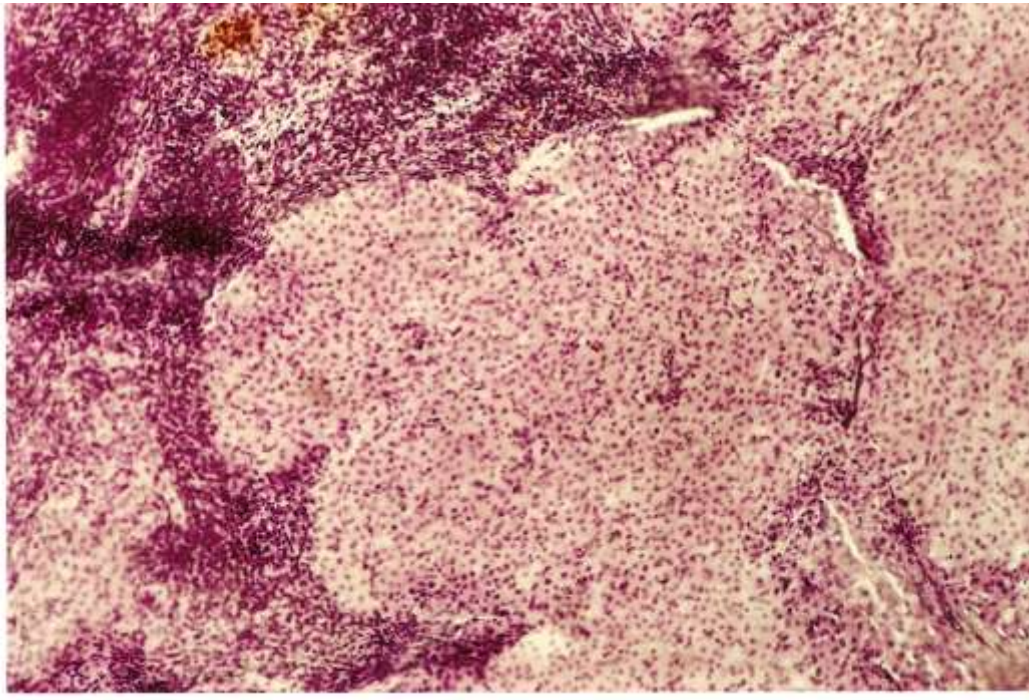


Рис. 4.34. Висока активність цирозу печінки з виразною регенерацією гепатоцитів та формуванням великих псевдоочащочок. Підліток з ХВГ С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

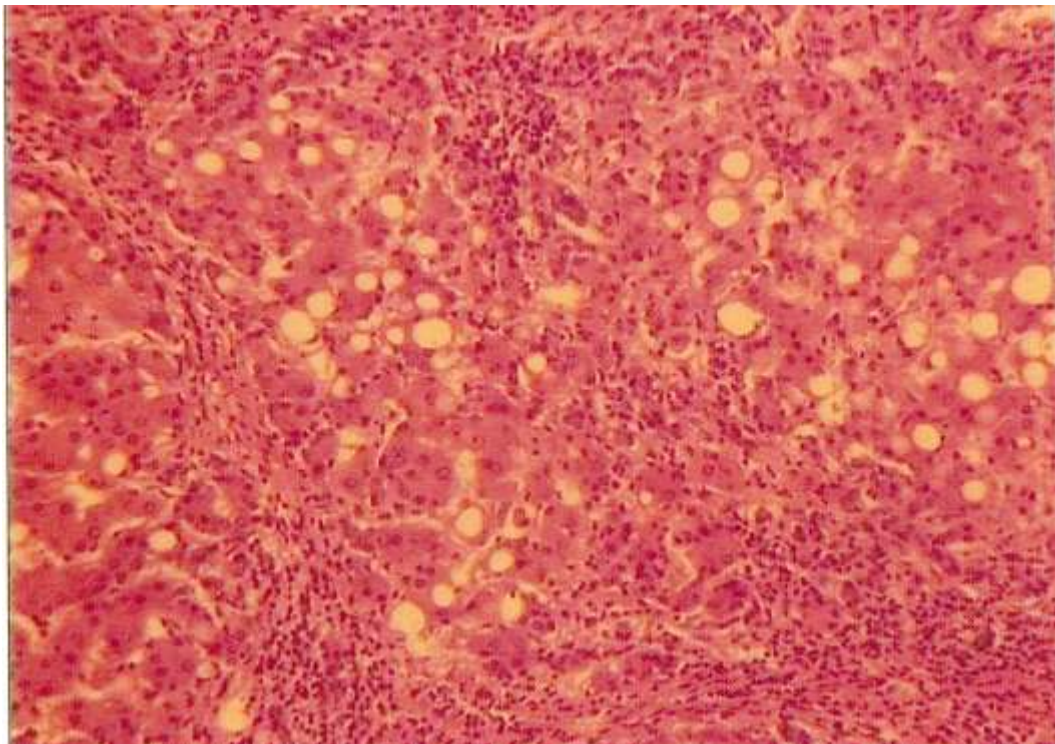


Рис. 4.35. Високоактивний цирроз печінки з наявністю крупновакуольної жирової дистрофії гепатоцитів, з фрагментацією часточок на тлі в'ялої регенерації гепатоцитів. Підліток з ХВГ С. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

### 4.3. Позапечінкові морфофункціональні зміни органів і тканин дітей, померлих від вірусних гепатитів В і С

Враховуючи результати попередніх розділів морфофункціональних досліджень печінки дітей різного віку, померлих від ВГ В і С, а саме поліморфізм змін, зумовлений як віковими особливостями дітей, так і етіологічним чинником. В даному підрозділі роботи наведені морфофункціональні зміни, що розвиваються на тлі ВГ в інших органах : нирках, легенях, міокарді, головному мозку, тонкій і товстій кишці, селезінці, наднирниках та вибірково (лише для дітей першого року життя) – тимуса.

Мотивацією таких досліджень слугували дані літератури про те, що ВГ є поліорганною патологією [39, 73, 117]. Клінічна маніфестація позапечінкових проявів, особливо у дітей, може бути домінантною і значно ускладнювати діагностику хронічних форм ВГ [116, 205, 346]. Проте наукове комплексне дослідження морфологічних змін внутрішніх органів дітей, які померли від ВГ з подальшим аналізом патогенетичних зв'язків між ними та інтегрованої оцінки з позиції стану організму дитини, як єдиного цілого, не проводилось.

У результаті проведеного аналізу було встановлено, що на тлі високої активності альтеративних запальних та фібропластичних процесів у печінці практично в усіх померлих виявлялись патологічні зміни у нирках та легенях.

У нирках спостерігались дистрофічні і некротичні процеси, ступінь яких знаходиться в прямій залежності від активності імунозапальних процесів у печінці і розвитку інтоксикації. Найбільш постійно виявляється зерниста дистрофія епітелію звивистих каналців, рідше – гідропічна та гіаліновокрапельна, з наявністю зернистих циліндрів у просвіті каналців. В міжканалцевій стромі окрім повнокрів'я та набряку інтенсифікувалась проліферація фіброblastів, траплялись скупчення лімфоцитів і склероз. У випадках смерті дітей від печінкової недостатності, ускладненої ДВЗ-синдромом, у нирках визначались різних розмірів вогнища некрозу епітелію

звивистих каналців, переважно без тубулорексису. Іноді в клубочках мали місце ознаки колапсу із значним розширенням порожнини капсули (рис. 4.36). Виявити залежність цих змін від віку дітей чи від етіології ВГ (В чи С) було неможливо через недостатньо велику кількість спостережень та не завжди уточнену етіологію ВГ.

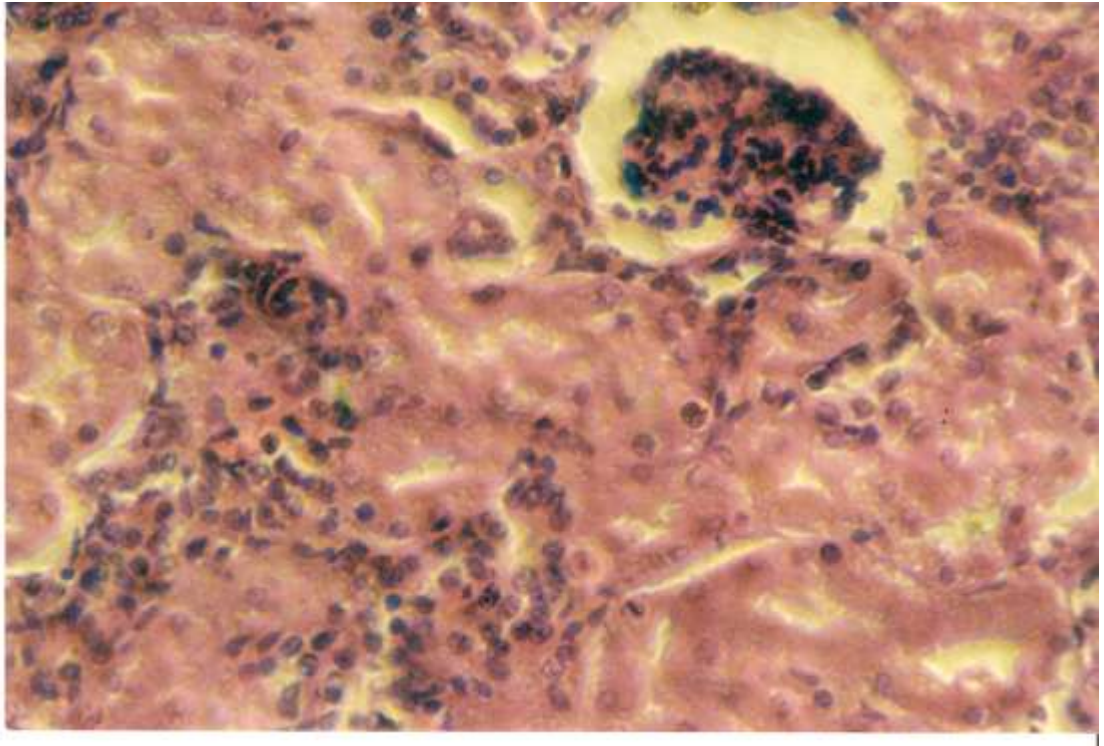


Рис. 4.36. Нирки. Зерниста дистрофія епітелію звивистих каналців. Колапс клубочка з розширенням просвіту капсули. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Характер змін в легенях був подібним, але не повністю ідентичним, у всіх померлих. Так при наявності у клінічному діагнозі таких ускладнень, як енцефалопатія або ДВЗ-синдром, у підлітків легені нагадували «шокові». В них виявлялись дрібні вогнища дис- та ателектазу, значне повнокрів'я з поширеними крововиливами та помірний набряк. У випадках наявності ЦП набряк легенів не завжди визначався. Міжальвеолярні перетинки у всіх випадках смерті дітей потовщувались не тільки за рахунок збільшення кровонаповнення септальних капілярів, а, в першу чергу, за рахунок



проліферації ендотеліоцитів, які місцями закривали просвіт септальних капілярів, що властиво для васкуліту і нагадувало інтерстиційне запалення. Характерним було набухання альвеолоцитів, які місцями злущувались. У порожнині альвеол в різній кількості визначались і свіжі, і гемолізовані еритроцити. Траплялись сидеробласти з помірним, а то і значним накопиченням гемосидерину. Що стосується дітей першого року життя, то в їх легнях описані зміни були ще більш вираженими. Крововиливи спостерігались не лише в паренхімі, а й у просвіті бронхів (рис. 4.37). Нашаровувались зміни властиві для інтерстиційної пневмонії з лімфогістіоцитарною інфільтрацією міжальвеолярних перетинок із звуженням просвіту септальних капілярів, склерозом та розсіяним ателектазом легень, що спричиняло значне потовщення міжальвеолярних перетинок та порушувало процеси зовнішнього дихання. В окремих випадках на тлі ХВГ В спостерігали розвиток вогнищевої пневмонії зливного характеру. Остання підтверджувалась наявністю в порожнині альвеол серозного або серозно-геморагічного ексудату з лейкоцитами та десквамованими альвеолярними макрофагами, в яких іноді визначався гемосидерин.

В міокарді практично при всіх летальних випадках виявлялась вогнищева чи дифузна зерниста дистрофія та периваскулярний набряк, який місцями розповсюджувався і на строму між міокардіоцитами. Рідко траплялись вогнищеві крововиливи за типом геморагічної інфільтрації. Суттєві патоморфологічні зміни у деяких померлих дітей першого року життя визначались у тонкій та товстій кишці. Вони полягали у розвитку нерівномірного повнокрів'я з крововиливами та набряком слизової оболонки (рис. 4.38). Клітини епітелію набрякли, місцями злущені. Під епітелієм іноді спостерігалась гіперплазія лімфоїдних фолікулів, а також моноцитарна та нейтрофільна інфільтрація. У просвіті судин мікроциркуляторного русла слизової оболонки траплялись стази та тромби. В одному випадку у померлої дитини першого року життя констатовано наявність глибокого некрозу ворсинок слизової оболонки тонкої кишки з геморагічним просочуванням і

розвитком нерівномірної нейтрофільної інфільтрації всіх шарів стінки кишки, що характерно для флегмонозно-гангренозного ентериту (див. рис. 4.38). Вказані зміни, на нашу думку, обумовлені ХПН з розвитком ДВЗ-синдрому. У підлітків у наших спостереженнях виявлялись зміни, характерні для катарального ентероколіту, але вони були непостійними.

У підшлунковій залозі характерним було набухання клітин ацинусів з розширенням їх просвіту, внаслідок чого ацинуси виглядали збільшеними, що на наш погляд є проявом компенсаторного підвищення функцій. У двох випадках мало місце збільшення в полі зору кількості ендокринних структур – острівців Лангерганса. Клітини їх були набряклими, ядра переважно гіпохромними. Розширення просвіту ацинусів на тлі значного набряку строми підшлункової залози траплялося у дітей першого року життя (рис. 4.39). В окремих випадках, у дітей підліткового віку, в тканині залози траплялись лімфоїдно-гістіоцитарні інфільтрати та дифузний склероз (рис. 4.40).

Наслідком і морфологічним проявом вираженої інтоксикації при ВГ і ЦП з летальним наслідком у дітей різного віку є значний периваскулярний і перинуклеарний набряк головного мозку (рис. 4.41). Мали місце повнокрів'я та дрібні геморагічні екстравазати.

В адвентиції кровоносних судин тканини головного мозку також траплялись скупчення лімфоцитів. Виявлялись дистрофічні зміни нейроцитів за типом «клітини-тіні», коли ядра не мали чітких контурів, були гіпохромні, а довкола розташовувалось по 4-5 лімфоцитів. Виявити чітку особливу залежність змін в тканині мозку від віку дитини чи від етіології ВГ було неможливо, тому що на зміни в печінці нашаровувались досить суттєві вторинні морфофункціональні зміни в інших органах, які теж могли спричиняти подібні зміни в головному мозку.

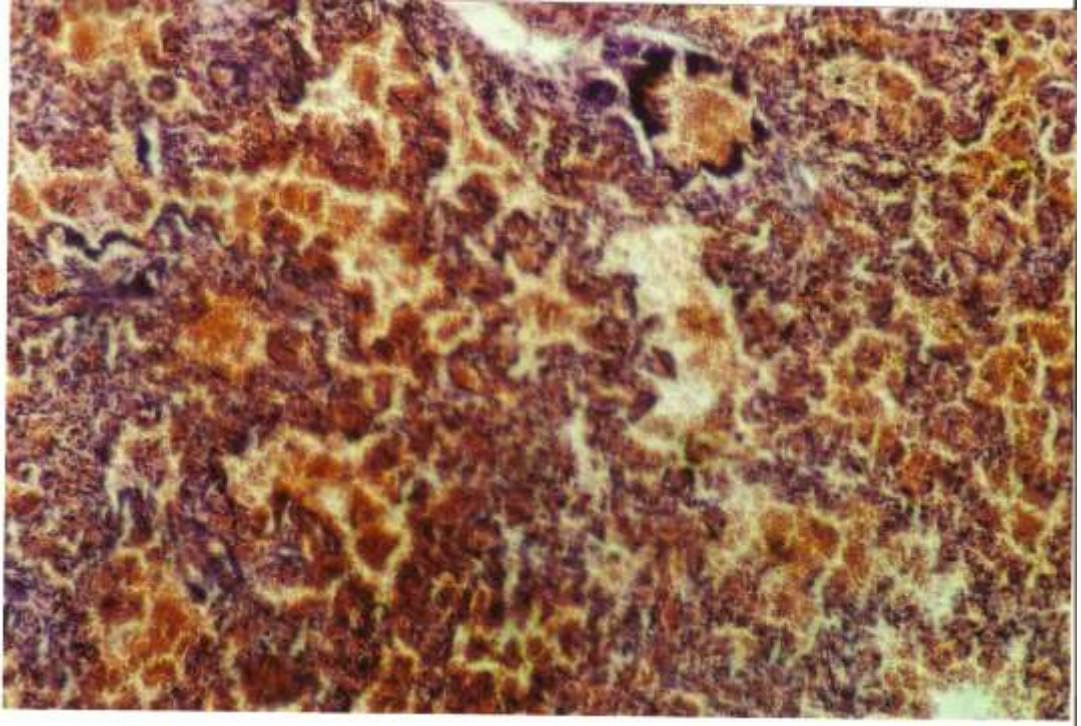


Рис. 4.37. Легені. Значне повнокрів'я з крововиливами. Накопичення гемосидерину в альвеолоцитах. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

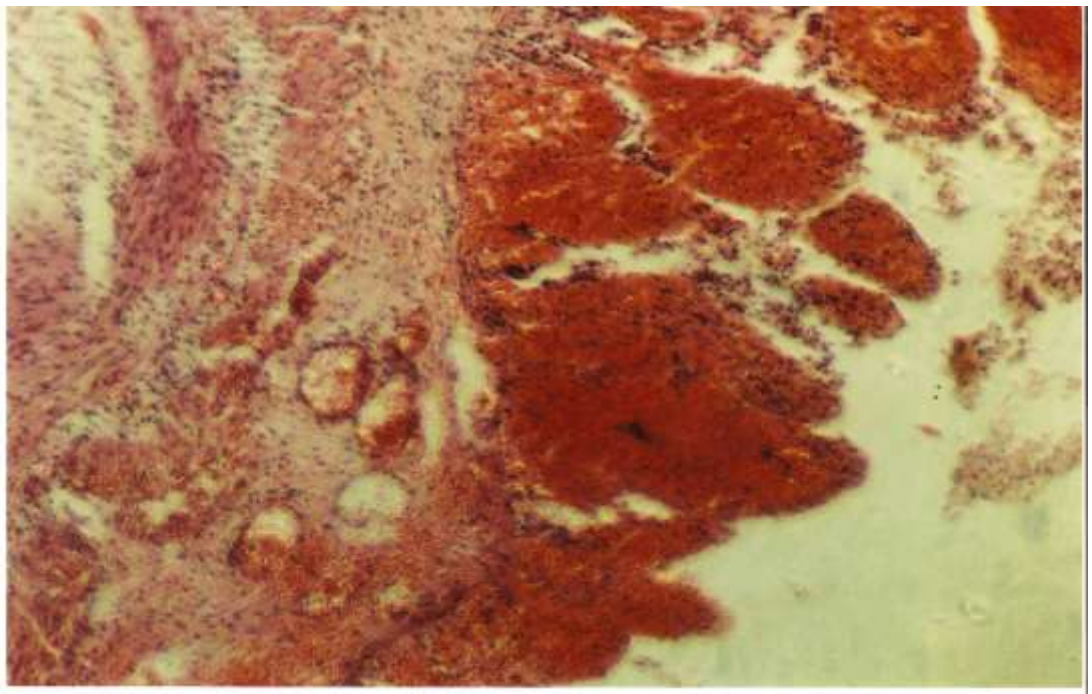


Рис. 4.38. Тонка кишка. Некроз ворсинок слизової оболонки та дифузна нейтрофільна інфільтрація підслизової та м'язової оболонок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.



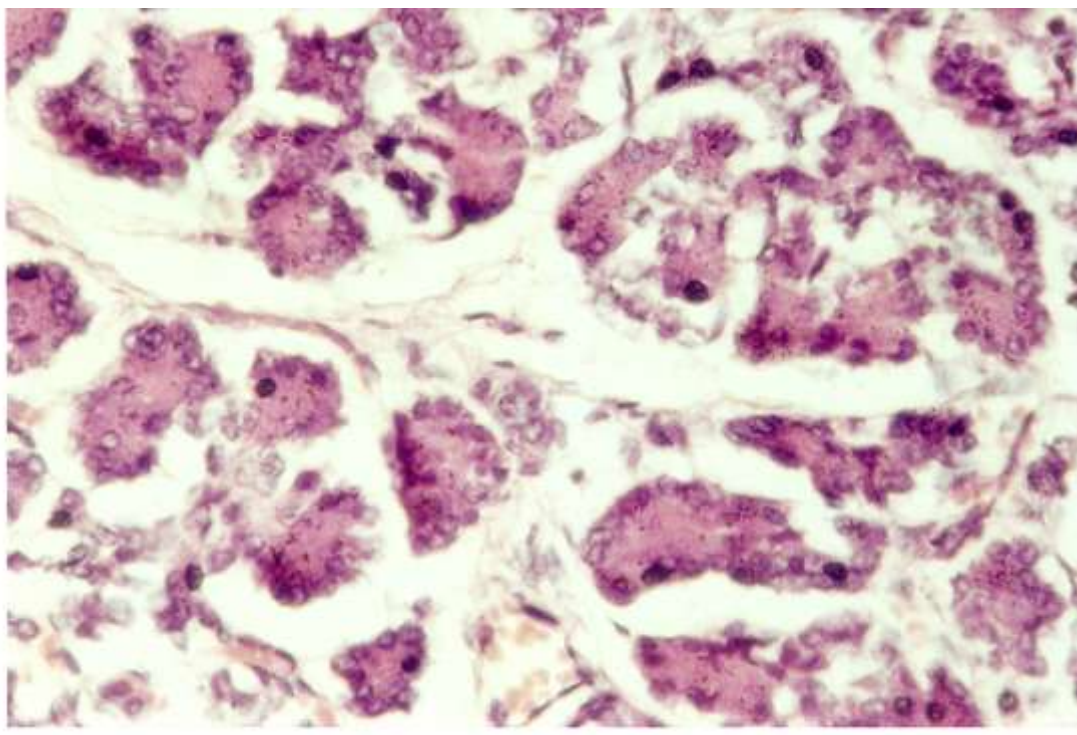


Рис. 4.39. Підшлункова залоза дитини раннього віку. Розширення просвіту ацинусів на тлі значного набряку строми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

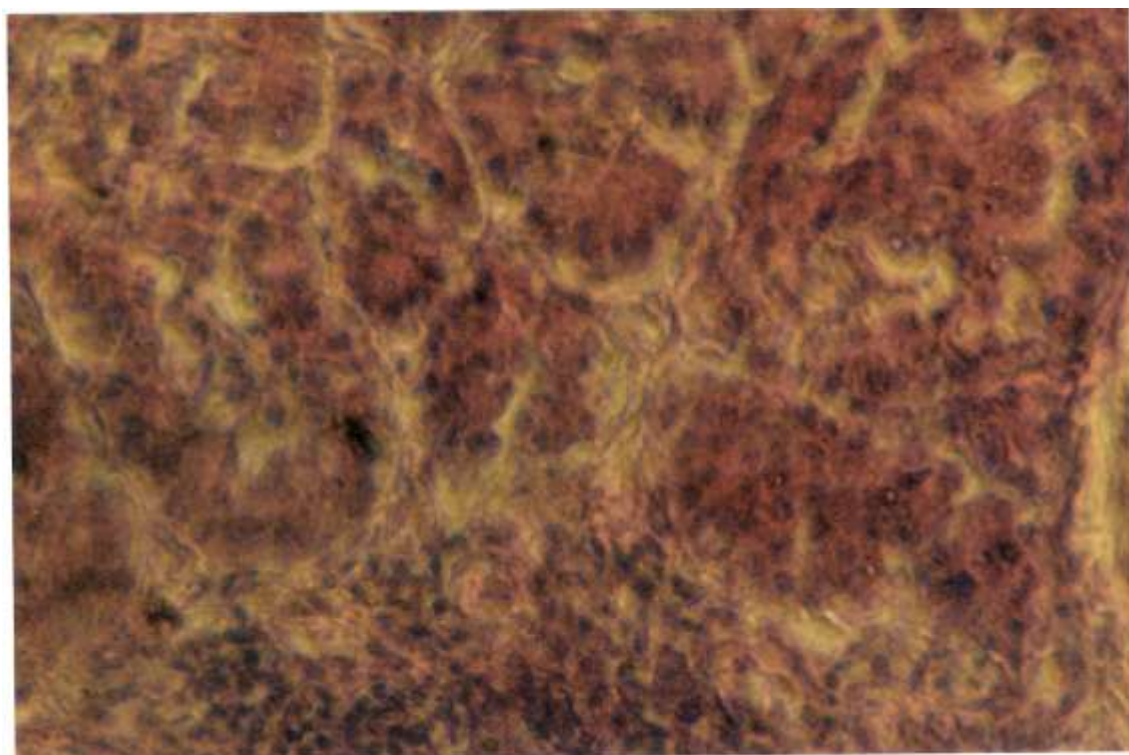


Рис. 4.40. Підшлункова залоза підлітка. Лімфогістіоцитарний інфільтрат та дифузний склероз. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

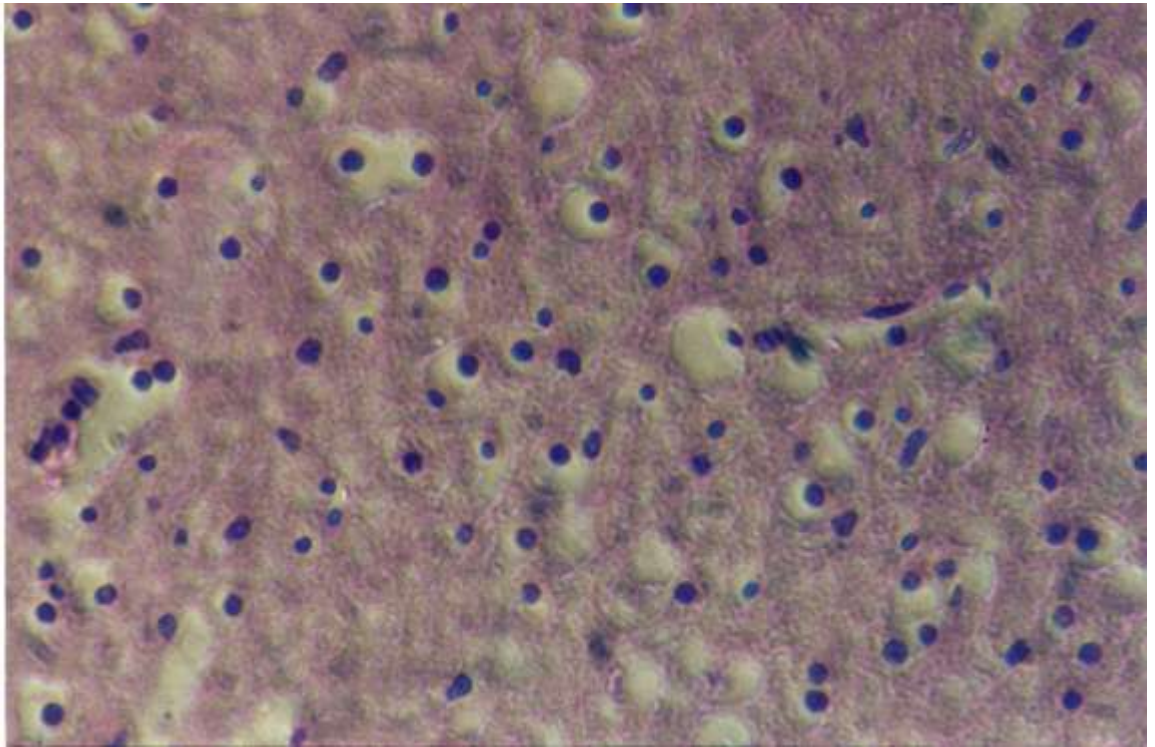


Рис. 4.41. Головний мозок. Периваскулярний та перинуклеарний набряк. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

У селезінці в однієї частини померлих визначалась значна гіперплазія лімфоїдних фолікулів та помірний гемосидероз, в інших – лімфоїдні фолікули були маленькими без гермінативних центрів і чіткої межі на фоні вираженого повнокрів'я.

Що стосується ендокринних залоз, то певні патоморфологічні зміни виявлені у наднирниках. Ці зміни були різними, навіть протилежними. У частини дітей, особливо підліткового віку, спостерігалось набрякання клітин клубочкової і особливо пучкової зони кіркового шару. Ядра клітин були чіткими, нормальних розмірів. В цитоплазмі клітин пучкової зони підвищувалась кількість ліпідів, тому вона виглядала пінистою (рис. 4.42).

Набухання клітин пучкової зони за рахунок збільшення в них ліпідів ми розцінювали як компенсаторне підвищення синтезу глюкокортикоїдів, що може призводити до розвитку імуносупресії. В адвентиції кровоносних судин спостерігався склероз з розповсюдженням сполучнотканинних септ на



паренхіму. Траплялись периваскулярні скупчення лімфоцитів. Вказані зміни були більш типовими у підлітків.

В інших дітей, переважно раннього віку, навпаки, кірковий шар був стоншеним, в першу чергу за рахунок звуження пучкової зони. Клітини останньої втрачали характерну орієнтацію, нечітко відмежовувались від клубочкової зони, мали різні ядра (гіпер- та гіпохромні), а цитоплазма була мутною, іноді гомогенною. Капсула органу мала хвилясту будову (зморщена), нерівномірно склерозована. Подібні зміни, безумовно, передбачають зниження функції цього органу. В однієї померлої дитини трьох місячного віку на розтині виявлено крововилив в наднирник (рис. 4.43).

Слід підкреслити, що в одного померлого підлітка гістологічно у наднирнику виявлені регенераційні аденоми, які ми розцінювали як прояви процесу компенсації на довготривалий запальний процес у печінці.

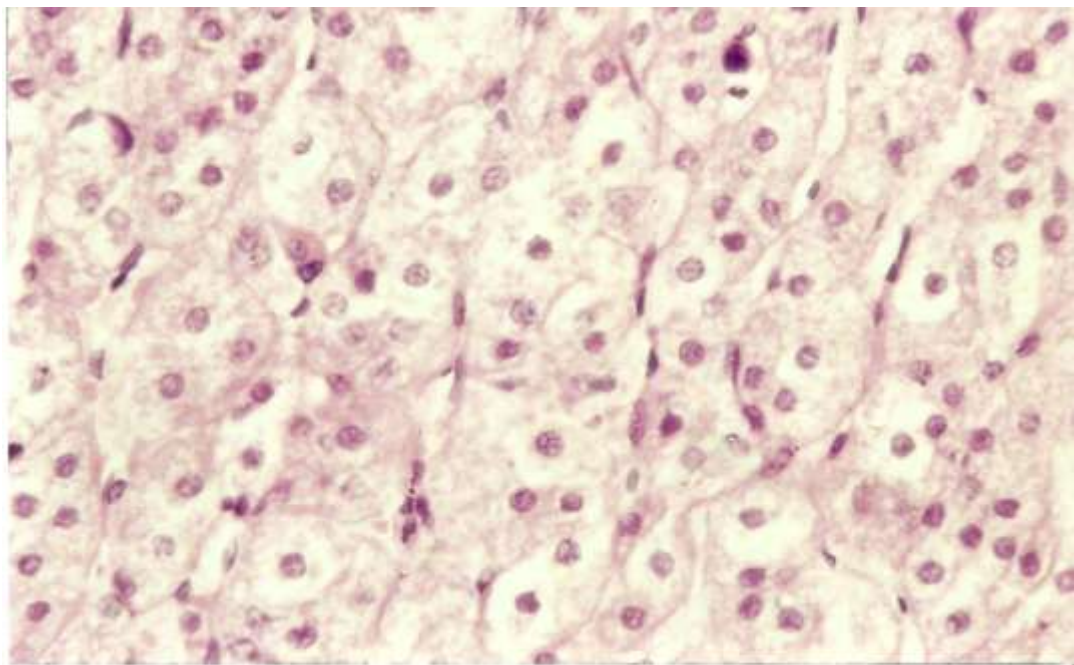


Рис. 4.42. Наднирник. Набухання та вакуолізація клітин пучкової зони на тлі посилення склерозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

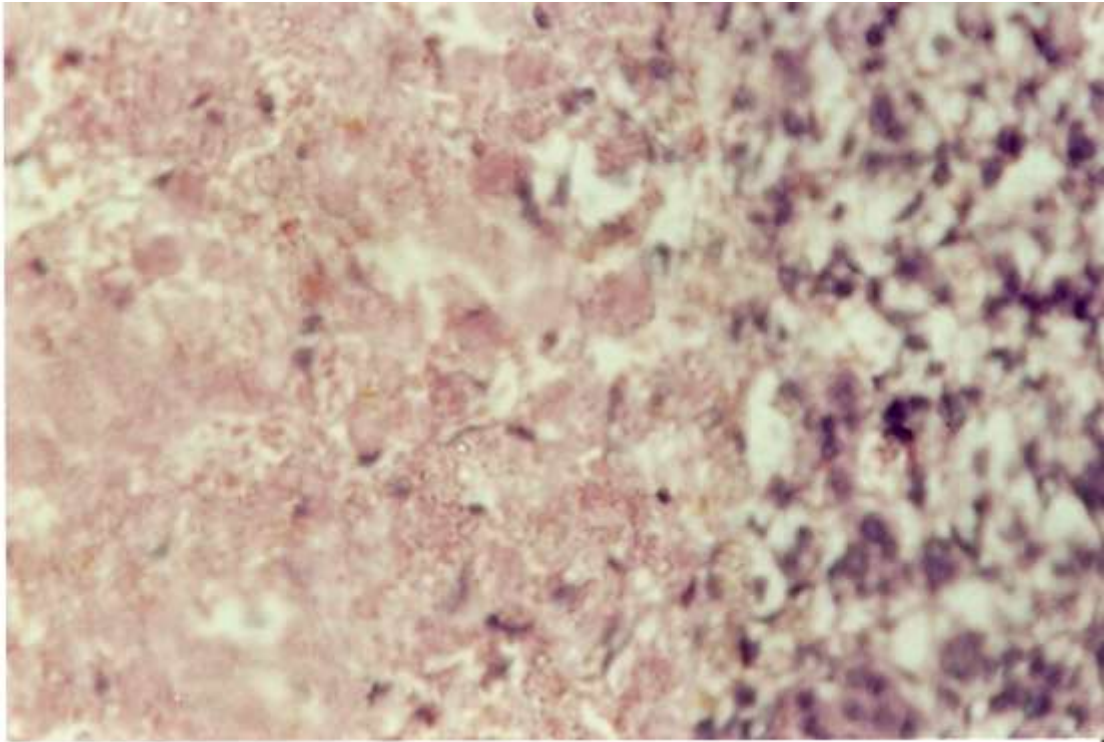


Рис. 4.43. Наднирник. Масивний крововилив. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

При ВГ та ЦП у дітей виникають загрозові для життя зміни в деяких імунокомпетентних органах, зокрема у тимусі. Так у померлих дітей, віком до одного року, виявлена акцидентальна інволюція тимуса третього-п'ятого ступеню, при якій кількість лімфоцитів в кірковій та мозковій зонах зменшувалась майже до повного зникнення (рис. 4.44). Епітеліальні структури розміщувались хаотично як у кірковій, так і у мозковій речовині.

Іноді при гістологічному дослідженні тимічні тільця різних розмірів визначались однаково часто у кірковому та мозковому шарі, лімфоїдний компонент тканини органу явно атрофований, функціонально пригнічений; визначаються широкі прошарки зрілої СТ (рис. 4.45). Слід відмітити, що глибока акцидентальна інволюція тимуса поєднувалась із гігантоклітинною трансформацією гепатоцитів, масивними неоднотимчасними некрозами та апоптозом, розвитком внутрішньоорганного холестазу. Імунодефіцит, зумовлений акцидентальною інволюцією тимусу, безумовно, створював умови для прогресивності перебігу ХВГ та розвитку ускладнень.



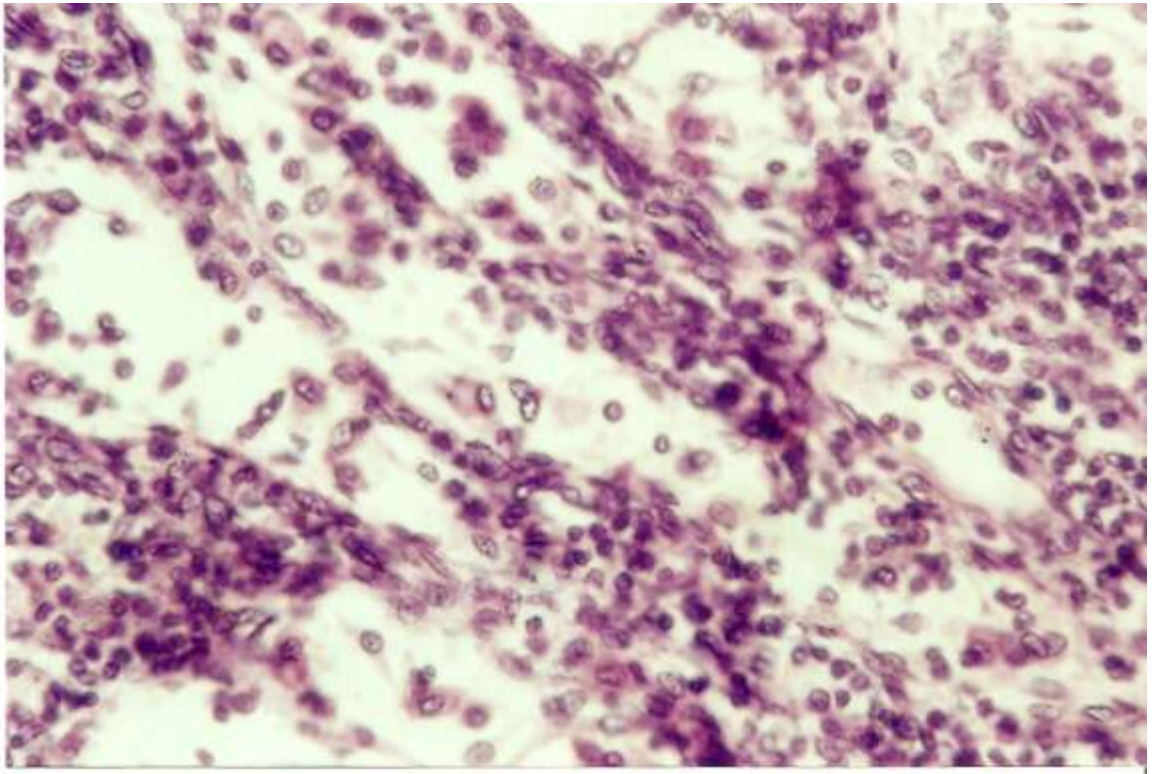


Рис. 4.44. Тимус. Акцидентальна інволюція третього ступеня. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

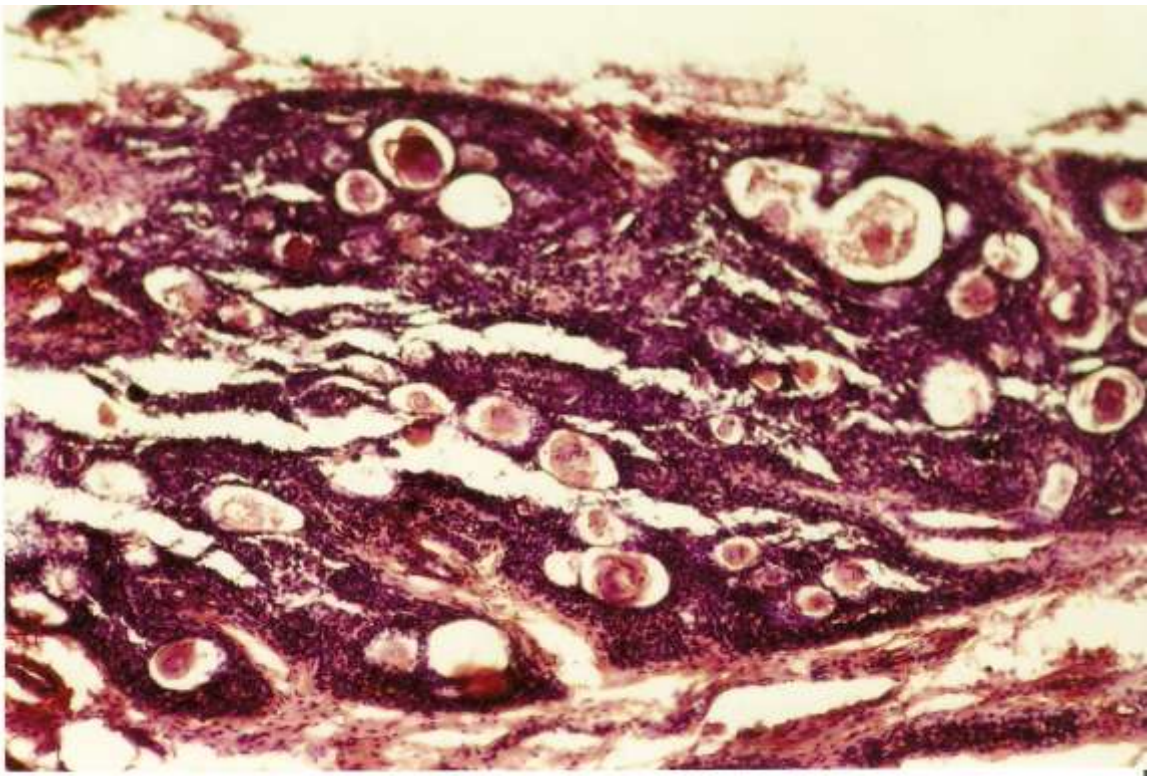


Рис. 4.45. Тимус. Акцидентальна інволюція п'ятого ступеня. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. x 400.



## Резюме

Таким чином, проведене дослідження показало, що причиною смерті при ВГ у дітей у більшості випадків (61,5 %) є наростаюча печінково-клітинна недостатність, основним та небезпечним ускладненням якої є розвиток геморагічного синдрому, на другому місці – ендогенна інтоксикація (38,5 %), що розвивається на тлі ВГ.

ВГ у померлих дітей першого року життя мають ряд патоморфологічних особливостей: розвиток гігантоклітинного ВГ з фульмінантним перебігом поєднується з акцидентальною інволюцією тимуса і гістологічно відрізняється виразними ексудативними та альтеративними змінами в печінці.

Що стосується підлітків, то типовим для них є швидкий розвиток ЦП і навіть, ГЦК.

ХВГ, особливо з прогредієнтним перебігом та розвитком ЦП у дітей, є поліорганною патологією. Глибокі патоморфологічні зміни виникають у легенях, нирках. В тонкій і товстій кишці, окрім катарального запалення, можливий розвиток флегмонозно-гангренозного процесу. В головному мозку – значного набряку, повнокрів'я, дистрофічних змін нейроцитів, у тимусі – акцидентальної інволюції різного ступеню тяжкості. Позапечінкові патологічні процеси у внутрішніх органах створюють несприятливі умови для перебігу основного захворювання, ускладнюють діагностику і можуть спричинити летальні наслідки. Можна передбачити, що вказані позапечінкові зміни могли маскувати клінічну маніфестацію ХВГ, особливо при малосимптомному їх перебігу, що утруднювало їх вчасну діагностику, сприяло розвитку термінальних форм із летальним наслідком.

В перспективі вивчення патогенезу вторинних змін внутрішніх органів і їх ролі у перебігу і наслідках ХВГ у дітей, передбачає удосконалення як діагностики, так і адекватної терапії та профілактики ускладнень. Розуміння особливостей патогенезу та морфогенезу ВГ у дітей раннього віку, пов'язаних, з одного боку, із структурно-функціональною незрілістю

печінки, а з іншого – із станом регулюючої імунної функції тимуса, дозволить індивідуально підібрати способи адекватного лікування і визначити прогноз захворювання.

Матеріали цього розділу дисертації опубліковано в працях [171, 177, 179, 184, 187, 189, 461].

## **РОЗДІЛ 5**

### **ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ**

Удосконалення діагностики і лікування ВГ, у тому числі у дітей, безперечно, пов'язано зі знанням клітинних і молекулярних механізмів запалення в печінці, що розкривають суть патологічного процесу [64, 110, 236, 260]. На сьогоднішній день відомо, що система регуляторних цитокінів здійснює противірусний імунітету та бере безпосередню участь у регуляції запалення. Порушення її функціонування призводить до розвитку несприятливих наслідків гострих ВГ, таких як: фульмінантний перебіг, що завершується ГПН, хронізація процесу, а також формування ПХВГ, перехід у ЦП і ГЦК [23].

Порушення цитокінової регуляції у дітей різного віку, хворих на ХВГ, можуть мати важливе значення для розвитку імунологічних порушень, що буде визначати прогноз захворювання.

Ми дослідили рівень основних про- та протизапальних цитокінів у дітей, хворих на ХВГ, у залежності від фази інфекційного процесу, активності запалення, віку хворої дитини, а також встановили їх кореляційний зв'язок з основними показниками клітинного та гуморального імунітету, а також їхній вплив на механізми розвитку даної патології.

#### **5.1. Патогенетична характеристика цитокінового профілю дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С залежно від фази реплікації вірусу та активності запального процесу**

При аналізі цитокінового профілю дітей із ХВГ у залежності від фази реплікації вірусу було встановлено певні відмінності. Так у хворих із ФР достовірно зростала концентрація цитокінів, які продукуються Th 1 типу, у

порівнянні з аналогічним показником у ФІ, зокрема: TNF- $\alpha$  - у 5 разів (відповідно  $4,12 \pm 1,36$  проти  $0,79 \pm 0,17$ ,  $p < 0,001$ ), IL-1 - майже у 8 разів ( $9,83 \pm 6,97$  проти  $1,24 \pm 0,12$ ,  $p < 0,01$ ) (Табл. 5.1). Між рівнем IL-1 та TNF- $\alpha$  встановлено достовірний прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,40$ ,  $p < 0,01$ ). Збільшення вмісту TNF- $\alpha$  є свідченням розвитку гепатоцелюлярного ушкодження та ендотоксемії, адже TNF- $\alpha$  є потужним медіатором запальних та клітинних реакцій. В умовах адекватного функціонування імунної системи організму підвищення даного цитокіну призводить до закономірного підвищення ІФН- $\gamma$  та IL-2 у сироватці крові.

Таблиця 5.1

**Вміст цитокінів у сироватці крові дітей, хворих на ХВГ, залежно від фази захворювання, (M $\pm$ m)**

Показники	Контроль, n=74	Фаза реплікації, n=40	Фаза інтеграції, (ЛС), n=21	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	$0,97 \pm 0,15$	$4,12 \pm 1,36^{***}$	$0,79 \pm 0,17$	$< 0,001$
IL-1, пг/л	$1,90 \pm 0,22$	$9,83 \pm 6,97^*$	$1,24 \pm 0,12$	$< 0,01$
IL-2, пг/л	$6,91 \pm 1,41$	$25,13 \pm 4,70^{***}$	$40,17 \pm 9,51^{***}$	$> 0,05$
IL-4, пг/л	$1,57 \pm 0,15$	$1,11 \pm 0,12^*$	$1,11 \pm 0,23$	$> 0,05$
IL-6, пг/л	$12,26 \pm 1,77$	$20,25 \pm 9,81$	$4,42 \pm 1,41^*$	$> 0,05$
IL-8, пг/л	$13,31 \pm 1,31$	$46,22 \pm 3,79^{***}$	$18,48 \pm 3,86$	$< 0,001$
IL-10, пг/л	$2,28 \pm 0,46$	$4,38 \pm 1,21^{**}$	$11,62 \pm 4,18^{***}$	$< 0,05$
ІФН- $\alpha$ , пг/л	$39,66 \pm 6,63$	$19,35 \pm 4,18^*$	$18,73 \pm 4,88$	$> 0,05$
ІФН- $\gamma$ , пг/л	$9,46 \pm 1,38$	$15,66 \pm 1,99^{**}$	$17,52 \pm 2,69^{**}$	$> 0,05$
TGF- $\beta$ 1, пг/л	$359,0 \pm 9,7$	$422,6 \pm 9,81^{***}$	$362,7 \pm 15,32$	$< 0,001$
IGF-1, пг/л	$124,7 \pm 7,4$	$215,9 \pm 25,01^{***}$	$189,2 \pm 21,38^{***}$	$> 0,05$

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

У 2,5 раза наставало збільшення рівня цитокіну з хемотаксичними властивостями, який посилює фагоцитоз, а саме – IL-8, який становив  $46,22 \pm 3,79$  у ФР проти  $18,48 \pm 3,86$  ( $p < 0,001$ ) у ФІ. Збільшення концентрації IL-8 у ФР призводило до зменшення кількості протизапального IL-4 ( $r = -0,29$ ,  $p = 0,07$ ). Збільшення кількості основних прозапальних цитокінів в організмі у

відповідь на активну реплікацію вірусу вказує на посилення запальної відповіді (див. табл. 5.1).

Стосовно динаміки вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10 спостерігається протилежна ситуація, а саме – збільшення у пацієнтів, вірус у організмі яких перебуває у ФІ, що у 2,5 раза перевищує таку у ФР вірусу (відповідно  $4,38 \pm 1,21$  проти  $11,62 \pm 4,18$ ,  $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1). Збільшення рівнів ІЛ-1 та ІЛ-10 у ФР підтверджується існуванням достовірного прямого кореляційного зв'язку ( $r=0,32$ ,  $p=0,019$ ).

Збільшений вміст ІЛ-2 у дітей з ФР та особливо з ФІ при HBV-інфекції та ЛС при HCV-інфекції (відповідно  $25,13 \pm 4,70$ ,  $p < 0,001$  та  $40,17 \pm 9,51$ ,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 5.1) свідчить про активацію Th1 лімфоцитів та їх участь у прогресивності патологічного процесу в печінці, навіть, при безсимптомному перебігу захворювання на тлі відсутньої активної реплікації вірусу.

Слід підкреслити, що концентрація ІФН- $\alpha$  зменшувалась, а ІФН- $\gamma$  – збільшувалась у однаковому ступені незалежно від фази реплікації вірусу (див. табл. 5.1). Тобто, незалежно від реплікативної активності вірусів, у дітей відбувається зниження противірусного захисту, внаслідок зменшення вироблення ІФН- $\alpha$  моноцитами і лімфоцитами. Зменшення вироблення ІФН- $\alpha$  поєднується зі збільшенням продукції ІФН- $\gamma$  як у дітей із ФР, так із ФІ/ЛС, що підтверджується наявністю оберненого кореляційного зв'язку ( $r=0,40$ ,  $p < 0,01$ ).

Зниження рівня ІФН- $\alpha$  у дітей із ФІ вірусу поєднується із зниженням ІЛ-6, що підтверджується наявністю прямого кореляційного зв'язку між даними показниками ( $r=0,49$ ), тоді ж як між показниками TNF- $\alpha$  та ІФН- $\alpha$  існує обернений ( $r=-0,34$ ), що вказує на пригнічення інтерферогенезу при збільшенні концентрації даних прозапальних цитокінів.

При аналізі вмісту концентрації TGF- $\beta 1$  у залежності від фази захворювання встановлено значне його збільшення у дітей з активною реплікацією вірусу, що становило  $422,6 \pm 9,81$  проти  $359,0 \pm 9,65$  у контролі

( $p < 0,001$ ). Рівень даного профіброгенного цитокіну достовірно перевищував аналогічний показник у дітей, вірус у яких знаходився у ФІ (при ХВГ В) та ЛС (при ХВГ С). Рівень IGF-1, який секретується гепатоцитами в ході запальної реакції, достовірно збільшувався незалежно від реплікативної активності вірусу, що вказує на його важливу роль у патогенезі ХВГ. Так у ФР даний показник збільшувався на 73 % ( $p < 0,001$ ), у ФІ/ЛС - на 51 % ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 5.1). Збільшення кількості IGF-1 у дітей із ФІ вірусу відбувається на тлі зменшення рівня ІЛ-6, що підтверджується існуванням оберненого кореляційного зв'язку ( $r = -0,37$ ,  $p = 0,019$ ).

Чітке зростання рівнів окремих цитокінів, що досліджувалися, зареєстровано зі збільшенням активності запального процесу у печінці. Найбільш виразна цитокінемія відбувалась за рахунок збільшення концентрації прозапальних цитокінів при помірній ( $A_3$ ) та високій ( $A_4$ ) активності запалення. Так рівень TNF- $\alpha$  при  $A_{3+4}$  підвищувався у 11 разів ( $10,98 \pm 5,36$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-2 – у 4 рази ( $28,21 \pm 10,64$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-6 – у 7 разів ( $82,05 \pm 40,82$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-8 – у 9 разів ( $117,4 \pm 29,16$ ,  $p < 0,001$ ) (табл. 5.2).

Менш виразне зростання даних цитокінів відбувалось при низькій ( $A_2$ ) активності. Рівень TNF- $\alpha$  підвищувався у 3,5 раза ( $3,46 \pm 1,17$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-2 – у 5 разів ( $36,82 \pm 9,85$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-6 – у 2 рази ( $24,75 \pm 6,22$ ,  $p < 0,05$ ), ІЛ-8 – майже у 5 разів ( $69,42 \pm 25,87$ ,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 5.2). Значне зростання рівня ІЛ-8 при  $A_2$  та  $A_{3+4}$  призводить до зменшення синтезу ІФН- $\gamma$ , тоді як відсутність гіперпродукції ІЛ-8 призводить до посилення інтерферогенезу ( $r = -0,33$ ).

Найменші концентрації прозапальних цитокінів, що досліджувалися, зареєстровані у хворих із мінімальною ( $A_1$ ) та відсутньою ( $A_0$ ) біохімічною активністю, зокрема кількість TNF- $\alpha$  підвищувалась лише у 2,3 раза ( $2,21 \pm 0,38$ ,  $p < 0,001$ ), ІЛ-2 – у 3,7 раза ( $25,68 \pm 4,76$ ,  $p < 0,001$ ), тоді як рівень ІЛ-6, навіть, знижувався у 2 рази і становив  $6,55 \pm 1,75$  ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2). Зменшення величини останнього прямо корелювало зі зниженням синтезу ІФН- $\alpha$  ( $r = 0,49$ ).

Таблиця 5.2

**Вміст цитокінів у сироватці крові дітей, хворих на ХВГ, у залежності від активності запального процесу, (M±m)**

Показники	Контроль, n=74	A <sub>0+1</sub> , n=39	A <sub>2</sub> , n=10	A <sub>3+4</sub> , n=12	p2-p3	p2-p4	p3-p4
TNF-α, пг/л	0,97±0,15	2,21±0,38 <sup>**</sup> *	3,46±1,17 <sup>**</sup> *	10,98±5,36 <sup>**</sup> *	>0,05	<0,01	>0,05
IL-1, пг/л	1,90±0,22	1,57±0,13	2,45±0,40	2,14±0,51	<0,05	>0,05	>0,05
IL-2, пг/л	6,91±1,41	25,68±4,76 <sup>***</sup>	36,82±9,85 <sup>**</sup> *	28,21±10,64 <sup>*</sup> **	>0,05	>0,05	>0,05
IL-4, пг/л	1,57±0,15	1,11±0,13 <sup>*</sup>	0,85±0,14	0,82±0,09 <sup>*</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
IL-6, пг/л	12,26±1,77	6,55±1,75 <sup>*</sup>	24,75±6,22 <sup>*</sup>	82,05±40,82 <sup>*</sup> **	<0,001	<0,001	>0,05
IL-8, пг/л	13,31±1,31	15,02±2,48	69,42±25,87 <sup>*</sup> **	117,4±29,16 <sup>*</sup> **	<0,001	<0,001	>0,05
IL-10, пг/л	2,28±0,46	2,92±0,19	4,48±0,77	3,03±0,22	<0,01	>0,05	>0,05
IFN-α, пг/л	39,66±6,63	18,52±3,46 <sup>*</sup>	29,11±6,03	35,62±9,29	>0,05	<0,05	>0,05
IFN-γ, пг/л	9,463±1,38	17,49±1,79 <sup>***</sup>	5,87±1,13	7,78±0,29	<0,01	<0,01	>0,05
TGF-β1, пг/л	359,0±9,7	372,1±8,6	419,2±16,7 <sup>*</sup>	386±11,5 <sup>*</sup>	<0,05	>0,05	>0,05
IGF-1, пг/л	124,7±7,4	134,4±17,4	216,4±15,9 <sup>**</sup> *	220,4±15,35 <sup>*</sup> **	<0,05	<0,01	>0,05

Примітка. A<sub>0+1</sub> – відсутня та мінімальна активність, A<sub>2</sub> – низька, A<sub>3+4</sub> – помірна та висока активність запального процесу.

Встановлено, що між IL-6 та біохімічним показником – тимоловою пробою, існує обернений кореляційний зв'язок ( $r=-0,33$ ,  $p<0,05$ ), тобто збільшення даного регуляторного цитокіну, який володіє як прозапальними, так і протизапальними властивостями, зменшує мезенхімально-запальну відповідь.

Слід відмітити, що рівень протизапального цитокіну IL-4 зі збільшенням активності запального процесу знижувався, та становив 1,11±0,13 проти 1,57±0,15 у контрольній групі ( $p<0,05$ ) при A<sub>0+1</sub>, 0,85±0,14

( $p=0,064$ ) – при  $A_2$ ,  $0,82\pm 0,09$  ( $p<0,05$ ) – при  $A_{3+4}$ . Тобто, підвищення активності трансаміназ, зокрема АЛТ, яка є маркером активності запального процесу у печінці при ВГ, відбувається на тлі пригнічення секреції та виділення даного цитокіну із протизапальними властивостями. Рівень іншого цитокіну із аналогічними властивостями – ІЛ-10, не зазнав суттєвих змін при  $A_{0+1}$  та  $A_{3+4}$ , тоді як при низькій активності ( $A_2$ ) зареєстрована тенденція до його підвищення ( $4,48\pm 0,77$ ,  $p=0,073$ ). Проте рівень ІЛ-10 при  $A_2$  достовірно ( $p<0,01$ ) перевищував такий у дітей із мінімальною на відсутньою біохімічною активністю запалення у печінці ( $A_{0+1}$ ) (див. табл. 5.2).

Характерною особливістю інтерферогенезу при ХВГ у дітей є зниження продукції ІФН- $\alpha$  у 2 рази при низькій та відсутній активності запалення ( $A_{0+1}$ ) у порівнянні з дітьми групи контролю ( $18,52\pm 3,46$  проти  $39,66\pm 6,63$ ,  $p<0,05$ ). Тоді як при помірній і високій запальній активності наставало достовірне відновлення вмісту сироваткового ІФН- $\alpha$  ( $35,62\pm 9,29$ ,  $p<0,05$ ). Рівень продукції ІФН- $\gamma$  збільшувався удвічі лише при  $A_{0+1}$  ( $17,49\pm 1,79$  проти  $9,46\pm 1,38$  у контролі,  $p<0,001$ ). Тоді як при підвищенні активності запалення у печінці продукція даного цитокіну із антивірусною дією достовірно знижувалась у порівнянні з таким при  $A_{0+1}$  ( $5,87\pm 1,13$  – при  $A_2$ ,  $p<0,01$  та  $7,78\pm 0,29$  – при  $A_{3+4}$ ,  $p<0,01$ ) (див. табл. 5.2)

Встановлено, що у дітей із ХВГ, на тлі нормального рівня трансаміназ ( $A_0$ ) або незначного їх підвищення ( $A_1$ ) концентрація як TGF- $\beta 1$ , так і IGF-1, не відрізнялась від аналогічних показників у практично здорових дітей контрольної групи. Тоді як при зростанні активності АЛТ у 3-5 разів ( $A_2$ ) концентрація TGF- $\beta 1$  збільшувалась до  $419,2\pm 16,7$  ( $p<0,05$ ), а IGF-1 – до  $216,4\pm 15,9$  ( $p<0,001$ ). Аналогічна ситуація спостерігалася і при помірній та високій активності запального процесу. Слід відмітити, що рівень протизапального профіброгенного цитокіну TGF- $\beta 1$  при низькій активності процесу достовірно ( $p<0,05$ ) перевищував такий не лише у здорових дітей, але й у хворих із відсутньою чи помірною активністю запального процесу у печінці (див. табл. 5.2).



Концентрація IGF-1 зберігалася на достатньо високому рівні як при низькій ( $216,4 \pm 15,9$ ), так і при помірній та високій активності запалення ( $220,4 \pm 15,35$ ), що достовірно перевищувало аналогічний показник у дітей без підвищення чи з незначним зростанням (у 3 рази) активності трансаміназ (відповідно  $p < 0,05$  та  $p < 0,01$ ) (див. табл. 5.2). Вплив IGF-1 на активність запального процесу підтверджується прямим кореляційним зв'язком між ним і біохімічним маркером мезенхімального запалення – тимоловою пробою ( $r = 0,32$ ,  $p < 0,05$ ).

Отже, зростання активності запального процесу у печінці характеризувалось збільшенням концентрації основних прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8), зменшенням – протизапального цитокіну IL-4, а також важливого фактору протівірусного імунітету - ІФН- $\gamma$ . Також зареєстровано підвищення рівня TGF- $\beta$ 1 та IGF-1, які відіграють важливу роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки.

## **5.2. Патогенетична характеристика цитокінового профілю у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у віковому аспекті**

З'ясувавши певні відмінності даних показників у дітей, хворих на ХВГ, залежно від фази реплікації вірусу та ступеня активності запального процесу у печінці, ми провели патогенетичний аналіз вікової динаміки концентрації у сироватці крові основних про- і протизапальних, а також профіброгенних цитокінів при даній патології.

Встановлено, що найбільш виразні порушення цитокінового профілю розвивались у дітей першого року життя, хворих на ХВГ. Так кількість TNF- $\alpha$  – основного прозапального цитокіну, збільшувалась у 11 разів у порівнянні з ідентичними за віком дітьми контрольної групи ( $12,0 \pm 5,61$ ,  $p < 0,001$ ), IL-2 – у 6 разів ( $23,33 \pm 6,87$ ,  $p < 0,05$ ), IL-6 – у 4 рази ( $64,57 \pm 9,17$ ,  $p < 0,001$ ), IL-8 – у 15 разів ( $156 \pm 28,01$ ,  $p < 0,001$ ) (табл. 5.3).

Активність протизапальних цитокінів, що досліджувались у сироватці хворих дітей, була неоднозначною, а саме: кількість ІЛ-4 знижувалась у 2,5 раза ( $0,95 \pm 0,30$  проти  $2,37 \pm 0,44$ ,  $p < 0,05$ ), тоді як ІЛ-10 – підвищувалась більше ніж у 4 рази ( $10,38 \pm 5,41$  проти  $2,38 \pm 0,33$ ,  $p < 0,01$ ) (див. табл. 5.3). збільшення рівня ІЛ-10 прямо корелювало зі збільшенням ІЛ-8 ( $r = 0,31$ ,  $p < 0,05$ ).

Стосовно змін у інтерферогенезі слід відмітити, що синтез ІФН- $\alpha$  у порівнянні з практично здоровими дітьми знижувався у 6 разів ( $8,12 \pm 0,37$  проти  $48,22 \pm 13,76$ ,  $p < 0,01$ ), тоді як ІФН- $\gamma$ , навпаки, зростав майже у 4 рази ( $8,45 \pm 0,43$  проти  $2,26 \pm 0,86$ ,  $p < 0,01$ ) (див. табл. 5.3). Зменшення вироблення ІФН- $\alpha$  поєднувалось із зниженням рівня протизапального цитокіну ІЛ-4, що підтверджується існуванням прямого кореляційного зв'язку ( $r = 0,45$ ).

Суттєво зростав рівень профіброгенного протизапального цитокіну TGF- $\beta 1$  ( $454,7 \pm 12,95$ ,  $p < 0,001$ ), тоді як кількість IGF-1 у дітей першої групи не збільшувалась (див. табл. 5.3). Відсутність збільшення концентрації останнього поєднується зі значними збільшенням кількості ІЛ-10 та підтверджується існуванням оберненого кореляційного зв'язку ( $r = -0,33$ ,  $p < 0,05$ ).

Таблиця 5.3

**Вміст основних про- і протизапальних цитокінів у сироватці крові дітей, віком від 8 місяців до 1 року (перша група), хворих на ХВГ ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль, n=10	Хворі, n=10	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	$1,08 \pm 0,12$	$12,0 \pm 5,61$	$< 0,001$
ІЛ-1, пг/л	$2,79 \pm 0,53$	$2,74 \pm 0,63$	$> 0,05$
ІЛ-2, пг/л	$3,88 \pm 0,80$	$23,33 \pm 6,87$	$< 0,05$
ІЛ-4, пг/л	$2,37 \pm 0,44$	$0,95 \pm 0,30$	$< 0,05$
ІЛ-6, пг/л	$14,6 \pm 4,77$	$64,57 \pm 9,17$	$< 0,001$
ІЛ-8, пг/л	$10,32 \pm 3,24$	$156 \pm 28,01$	$< 0,001$
ІЛ-10, пг/л	$2,38 \pm 0,33$	$10,38 \pm 5,41$	$< 0,01$
ІФН- $\alpha$ , пг/л	$48,22 \pm 13,76$	$8,12 \pm 0,37$	$< 0,01$
ІФН- $\gamma$ , пг/л	$2,26 \pm 0,86$	$8,45 \pm 0,43$	$< 0,01$
TGF- $\beta 1$ , пг/л	$371,9 \pm 13,17$	$454,7 \pm 12,95$	$< 0,001$

IGF-1, пг/л	113,4±17,05	90,65±22,86	>0,05
-------------	-------------	-------------	-------

У дітей другої групи, віком від 1 до 4 років, порушення цитонікового балансу у порівнянні з дітьми контрольної групи зазнали менших змін. Так вміст прозапального TNF- $\alpha$  у сироватці хворих на ХВГ дітей збільшувався у 6,7 рази (3,42±0,93 проти 0,51±0,06 у контрольній групі,  $p<0,01$ ), IL-2 – у 2 рази (30,27±6,12 проти 13,94±1,13,  $p<0,01$ ), IL-8 – у 5,5 разів (62,44±22,97 проти 11,23±2,61,  $p<0,05$ ). Суттєве зменшення продукції ІФН- $\alpha$  (17,64±0,93 проти 41,27±9,28,  $p<0,05$ ), а також тенденція до зменшення вмісту ІФН- $\gamma$ , свідчить про порушення противірусного захисту макроорганізму у відповідь на проникнення вірусу. Вміст профіброгенного TGF- $\beta$ 1 збільшувався до 390,5±8,75 проти 347,3±4,99 у контролі ( $p<0,001$ ), що вказує на прогресування фіброзу печінки у дітей, хворих на ХВГ (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

**Вміст основних про- і протизапальних цитокінів у сироватці крові дітей від 1 до 4 років (друга група), хворих на ХВГ (M± m)**

Показники	Контроль, n=18	Хворі, n=16	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	0,51±0,06	3,42±0,93	<0,01
IL-1, пг/л	2,05±0,29	2,28±0,36	>0,05
IL-2, пг/л	13,94±1,13	30,27±6,12	<0,01
IL-4, пг/л	1,09±0,05	1,19±0,12	>0,05
IL-6, пг/л	11,09±2,72	9,73±4,17	>0,05
IL-8, пг/л	11,23±2,61	62,44±22,97	<0,05
IL-10, пг/л	3,75±0,29	3,56±0,24	>0,05
ІФН- $\alpha$ , пг/л	41,27±9,28	17,64±0,93	<0,05
ІФН- $\gamma$ , пг/л	14,37±2,60	11,91±2,49	>0,05
TGF- $\beta$ 1, пг/л	347,3±4,99	390,5±8,75	<0,001
IGF-1, пг/л	114,6±11,18	134,8±14,7	>0,05

У хворих дітей третьої групи, віком від 4 до 7 років, окрім суттєвого збільшення рівня TNF- $\alpha$  – майже у 16 разів (3,14±1,42,  $p<0,05$ ). На відміну від пацієнтів перших двох груп, відбувалося достовірне збільшення кількості мультифункціонального прозапального цитокіну IL-1 у 2 рази (1,90±0,28,

$p < 0,01$ ). Суттєво, майже у 8 разів, збільшувалась кількість регулятора клітинної імунної відповіді – ІЛ-2 ( $31,73 \pm 9,46$ ,  $p < 0,01$ ). У дітей даної вікової групи, на відміну від дітей молодшого віку, зареєстрована тенденція до збільшення протизапального цитокіну ІЛ-4 ( $1,77 \pm 0,26$ ,  $p = 0,09$ ), що вказує на включення регуляторних механізмів згасання виразності запального процесу. Вміст ІФН- $\alpha$  також мав тенденцію до зменшення, що склало відповідно  $16,1 \pm 6,67$  ( $p = 0,09$ ), тоді як рівень ІФН- $\gamma$  зростав до  $19,6 \pm 4,72$  ( $p < 0,05$ ). Значно збільшувався вміст IGF-1 ( $129,1 \pm 15,25$ ,  $p < 0,05$ ), що вказує на важливу роль даного фактору у патогенезі ХВГ у дітей даного віку (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

**Вміст основних про- і протизапальних цитокінів у сироватці крові дітей від 4 до 7 років (третя група), хворих на ХВГ ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль, n=14	Хворі на ХВГ, n=10	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	$0,20 \pm 0,05$	$3,14 \pm 1,42$	$< 0,05$
ІЛ-1, пг/л	$0,82 \pm 0,24$	$1,90 \pm 0,28$	$< 0,01$
ІЛ-2, пг/л	$4,07 \pm 0,67$	$31,73 \pm 9,46$	$< 0,01$
ІЛ-4, пг/л	$1,12 \pm 0,27$	$1,77 \pm 0,26$	$= 0,09$
ІЛ-6, пг/л	$10,6 \pm 3,51$	$4,21 \pm 0,85$	$> 0,05$
ІЛ-8, пг/л	$6,39 \pm 0,81$	$14,75 \pm 6,21$	$> 0,05$
ІЛ-10, пг/л	$2,04 \pm 0,48$	$3,64 \pm 0,91$	$> 0,05$
ІФН- $\alpha$ , пг/л	$55,35 \pm 18,04$	$16,1 \pm 6,67$	$= 0,09$
ІФН- $\gamma$ , пг/л	$7,24 \pm 2,75$	$19,6 \pm 4,72$	$< 0,05$
TGF- $\beta$ 1, пг/л	$380,3 \pm 11,81$	$398,4 \pm 16,73$	$> 0,05$
IGF-1, пг/л	$93,33 \pm 8,22$	$129,1 \pm 15,25$	$< 0,05$

У дітей четвертої групи (від 7 до 12 років), хворих на ХВГ, зареєстровано менш виразне у порівнянні з попередніми групами збільшення вмісту прозапальних цитокінів у сироватці крові. Так рівень TNF- $\alpha$  зростав лише у 3 рази ( $1,29 \pm 0,32$  проти  $0,42 \pm 0,08$  у контрольній групі,  $p < 0,01$ ), а кількість ІЛ-1 мала тенденцію до збільшення ( $5,68 \pm 3,20$  проти  $1,19 \pm 0,25$ ,  $p = 0,081$ ). Про активацію Th 1 типу свідчило збільшення концентрації ІЛ-2, яка становила  $27,85 \pm 13,39$  проти  $3,50 \pm 1,03$  у практично здорових дітей ( $p < 0,05$ ). Вміст протизапального профіброгенного цитокіну TGF- $\beta$ 1

збільшувався до  $406,8 \pm 18,28$  проти  $332,4 \pm 20,21$  ( $p < 0,05$ ), що вказує на активний фіброгенез у дітей даного віку (табл. 5.6).

У хворих підлітків (від 12 до 18 років), які увійшли до п'ятої групи, дисбаланс основних регуляторних прозапальних цитокінів сироватки крові був найменш виразним. Так рівень TNF- $\alpha$  мав лише тенденцію до зростання ( $2,11 \pm 0,55$  проти  $1,31 \pm 0,65$ ,  $p = 0,09$ ) (табл. 5.7). Менша активація синтезу прозапальних цитокінів, які необхідні для повноцінної елімінації вірусу із макроорганізму, на нашу думку, може слугувати одним із механізмів хронізації та прогресивності перебігу ВГ у підлітків.

Таблиця 5.6

**Вміст основних про- і протизапальних цитокінів у сироватці крові дітей від 7 до 12 років (четверта група), хворих на ХВГ ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль, n=12	Хворі на ХВГ, n=7	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	$0,42 \pm 0,08$	$1,29 \pm 0,32$	$< 0,01$
IL-1, пг/л	$1,19 \pm 0,25$	$5,68 \pm 3,20$	$> 0,05$
IL-2, пг/л	$3,50 \pm 1,03$	$27,85 \pm 13,39$	$< 0,05$
IL-4, пг/л	$1,30 \pm 0,24$	$0,94 \pm 0,15$	$> 0,05$
IL-6, пг/л	$10,59 \pm 3,43$	$7,52 \pm 5,49$	$> 0,05$
IL-8, пг/л	$17,55 \pm 3,75$	$9,25 \pm 1,60$	$> 0,05$
IL-10, пг/л	$2,68 \pm 1,95$	$3,02 \pm 0,26$	$> 0,05$
IFN- $\alpha$ , пг/л	$39,29 \pm 14,38$	$26,23 \pm 10,09$	$> 0,05$
IFN- $\gamma$ , пг/л	$15,14 \pm 3,68$	$14,65 \pm 3,95$	$> 0,05$
TGF- $\beta 1$ , пг/л	$332,4 \pm 20,21$	$406,8 \pm 18,28$	$< 0,05$
IGF-1, пг/л	$204,2 \pm 13,27$	$211,3 \pm 27,1$	$> 0,05$

Відомо, що IL-2 відіграє ключову роль в індукції клітинної ланки імунітету, адже саме він зі своїм рецептором слугує сигналом активації клітинного поділу і проліферації Т-клітин. Отже, недостатня продукція даного цитокіну у дітей, віком від 12 до 18 років ( $24,87 \pm 7,54$  проти  $17,03 \pm 6,94$ ,  $p > 0,05$ ) (див. табл. 5.7), свідчить про недостатню клітинну імунну відповідь, що створює умови для персистенції HBV- та HCV-інфекції. Низька концентрація IL-2 супроводжувалась одночасним підвищенням вмісту IL-10, який проявляє протизапальну дію, у 3 рази ( $4,34 \pm 1,87$  проти  $1,46 \pm 0,27$ ,

$p < 0,01$ ), що, ймовірно, пов'язано з його здатністю інгібувати функції Th 1 типу та пригнічувати продукцію ІЛ-2.

Поряд зі збільшенням вмісту ІЛ-10 наставало суттєве зростання іншого протизапального цитокіну із профіброгенними властивостями – TGF- $\beta$ 1, рівень якого сягав  $389,9 \pm 9,66$  ( $p < 0,05$ ). Слід відмітити, що кількість IGF-1 збільшувалась у 2,5 раза у порівнянні з контролем, що становило  $262,2 \pm 12,02$  ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 5.7).

Таблиця 5.7

**Вміст основних про- і протизапальних цитокінів у сироватці крові дітей від 12 до 18 років (п'ята група), хворих на ХВГ ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль, n=20	Хворі на ХВГ, n=18	p
TNF- $\alpha$ , пг/л	1,31 $\pm$ 0,65	2,11 $\pm$ 0,55	>0,05
ІЛ-1, пг/л	2,00 $\pm$ 0,85	2,63 $\pm$ 0,94	>0,05
ІЛ-2, пг/л	17,03 $\pm$ 6,94	24,87 $\pm$ 7,54	>0,05
ІЛ-4, пг/л	1,04 $\pm$ 0,25	1,12 $\pm$ 0,19	>0,05
ІЛ-6, пг/л	11,44 $\pm$ 5,27	7,01 $\pm$ 2,57	>0,05
ІЛ-8, пг/л	15,21 $\pm$ 2,33	17,86 $\pm$ 6,13	>0,05
ІЛ-10, пг/л	1,46 $\pm$ 0,27	4,34 $\pm$ 1,87	<0,01
ІФН- $\alpha$ , пг/л	34,27 $\pm$ 18,56	13,65 $\pm$ 3,11	>0,05
ІФН- $\gamma$ , пг/л	13,06 $\pm$ 1,01	18,94 $\pm$ 2,66	>0,05
TGF- $\beta$ 1, пг/л	355,8 $\pm$ 10,67	389,9 $\pm$ 9,66	<0,05
IGF-1, пг/л	104,1 $\pm$ 9,93	262,2 $\pm$ 12,02	<0,001

При порівнянні цитокінового статусу у дітей різних вікових груп були встановлені деякі вікові відмінності. Так найбільш виразне посилення синтезу таких прозапальних цитокінів, як: TNF- $\alpha$ , ІЛ-6 та ІЛ-8 наставало у дітей першої групи (від 8 місяців до 1 року), що достовірно відрізнялося від дітей другої – п'ятої груп (табл. 5.8).

Достовірно більша продукція протизапального цитокіну ІЛ-10 також зареєстрована у дітей першої групи, тоді як ІЛ-4 – у дітей третьої групи (див. табл. 5.8).

Найбільш значне пригнічення інтерферогенезу відбувалося також у дітей першого року життя, що, на нашу думку, з одного боку, може бути

пов'язано із функціональною незрілістю імунної системи у дітей даного віку, яка неспроможна чинити адекватну відповідь на проникнення вірусу. З іншого боку, це може бути спричинено імуносупресуючою дією вірусів. Незважаючи на причину даного явища, низькі концентрації інтерферонів не можуть забезпечувати повноцінну противірусну дію на HBV та HCV.

Таблиця 5.8

**Вікові особливості вмісту цитокінів у сироватці крові дітей із ХВГ,  
(M± m)**

Показники	1 група (до 1 року), n=10	2 група (від 1 до 4 років), n=16	3 група (від 4 до 7 років), n=10	4 група (від 7 до 12 років), n=7	5 група (від 12 до 18 років), n=18
TNF- $\alpha$ , пг/л	12,0 $\pm$ 5,61	3,42 $\pm$ 0,93	3,14 $\pm$ 1,42	1,29 $\pm$ 0,32 p1,4<0,01	2,11 $\pm$ 0,55 p1,5<0,01
IL-1, пг/л	2,74 $\pm$ 0,63	2,28 $\pm$ 0,36	1,90 $\pm$ 0,28	5,68 $\pm$ 3,20	2,63 $\pm$ 0,94
IL-2, пг/л	23,33 $\pm$ 6,87	30,27 $\pm$ 6,12	31,73 $\pm$ 9,46	27,85 $\pm$ 13,39	24,87 $\pm$ 7,54
IL-4, пг/л	0,95 $\pm$ 0,30	1,19 $\pm$ 0,12	1,77 $\pm$ 0,26	0,94 $\pm$ 0,15	1,12 $\pm$ 0,19
IL-6, пг/л	64,57 $\pm$ 9,17	9,73 $\pm$ 4,17 p1,2<0,001	4,21 $\pm$ 0,85 p1,3<0,001	7,52 $\pm$ 5,49 p1,4<0,001	7,01 $\pm$ 2,57 p1,5<0,001
IL-8, пг/л	156 $\pm$ 28,01	62,44 $\pm$ 22,97 p1,2<0,05	14,75 $\pm$ 6,21 p1,3<0,01	9,25 $\pm$ 1,60 p1,4<0,01 p2,4<0,05	17,86 $\pm$ 6,13 p1,5<0,001 p2,5<0,05
IL-10, пг/л	10,38 $\pm$ 5,41	3,56 $\pm$ 0,24	3,64 $\pm$ 0,91	3,02 $\pm$ 0,26	4,34 $\pm$ 1,87
IFN- $\alpha$ , пг/л	8,12 $\pm$ 0,37	17,64 $\pm$ 0,93 p1,2<0,001	16,1 $\pm$ 6,67	26,23 $\pm$ 10,09 p1,5<0,05	13,65 $\pm$ 3,11
IFN- $\gamma$ , пг/л	8,45 $\pm$ 0,43	11,91 $\pm$ 2,49	19,6 $\pm$ 4,72	14,65 $\pm$ 3,95	18,94 $\pm$ 2,66
TGF- $\beta$ 1, пг/л	454,7 $\pm$ 12,95	390,5 $\pm$ 8,75 p1,2<0,001	398,4 $\pm$ 16,73 p1,3<0,05	406,8 $\pm$ 18,28 p1,4<0,05	389,9 $\pm$ 9,66 p1,5<0,001
IGF-1, пг/л	90,65 $\pm$ 22,86 p1,4<0,01 p1,5<0,001	134,8 $\pm$ 14,7 p2,4<0,05 p2,5<0,01	129,1 $\pm$ 15,25 p3,4<0,05 p3,5<0,01	211,3 $\pm$ 27,1 p4,5=0,056	262,2 $\pm$ 12,02

Цікаві результати були отримані у пацієнтів першої групи (від 8 місяців до 1 року), у яких концентрація профіброгенного TGF- $\beta$ 1 виявилась найвищою (454,7 $\pm$ 12,95) (рис. 5.1), а IGF-1 – найнижчою серед усіх

обстежених вікових груп ( $90,65 \pm 22,86$ ) (рис. 5.2). Слід відмітити, що рівень TGF- $\beta$ 1 у хворих першої групи достовірно перевищував аналогічний у хворих дітей другої-п'ятої груп, а IGF-1 – був нижчим, ніж такий у пацієнтів четвертої ( $p < 0,01$ ) та п'ятої груп ( $p < 0,001$ ). Це, на нашу думку, опосередковано вказує на найбільш інтенсивний фіброгенез у дітей першого року життя, які були інфіковані перинатально.

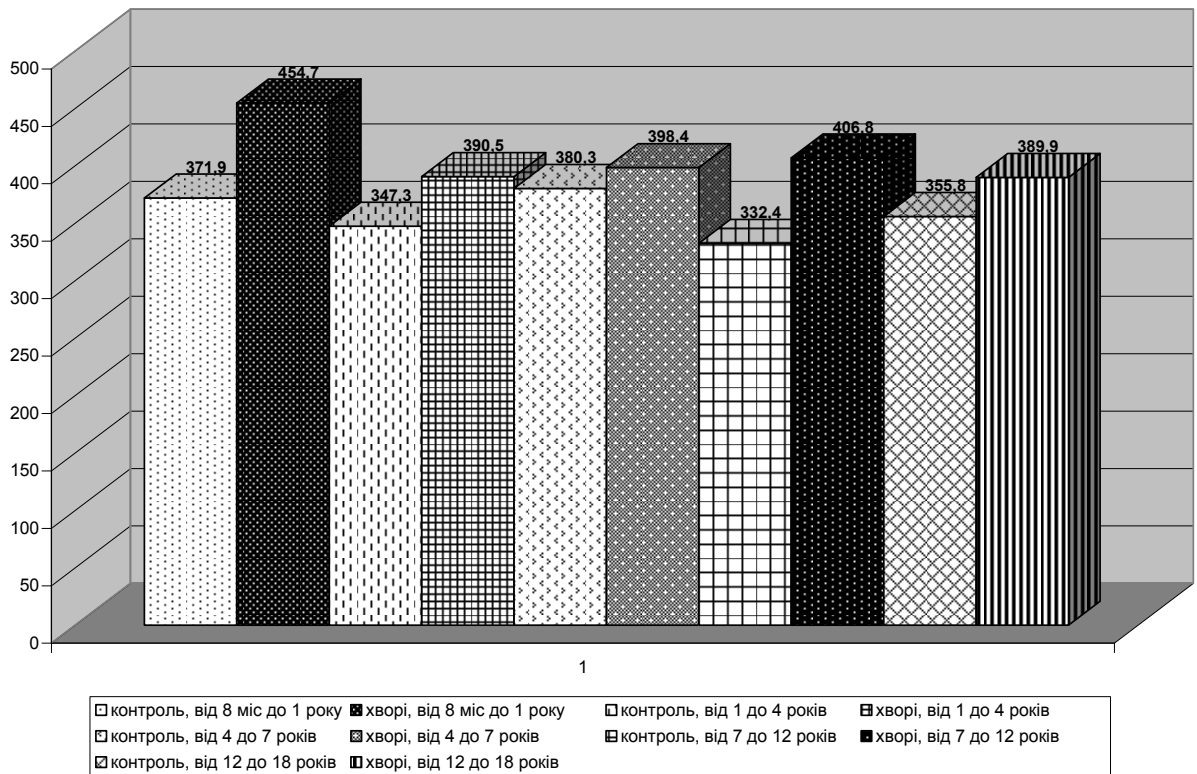


Рис. 5.1. Рівень TGF- $\beta$ 1 (пг/л) при ХВГ у дітей різного віку.



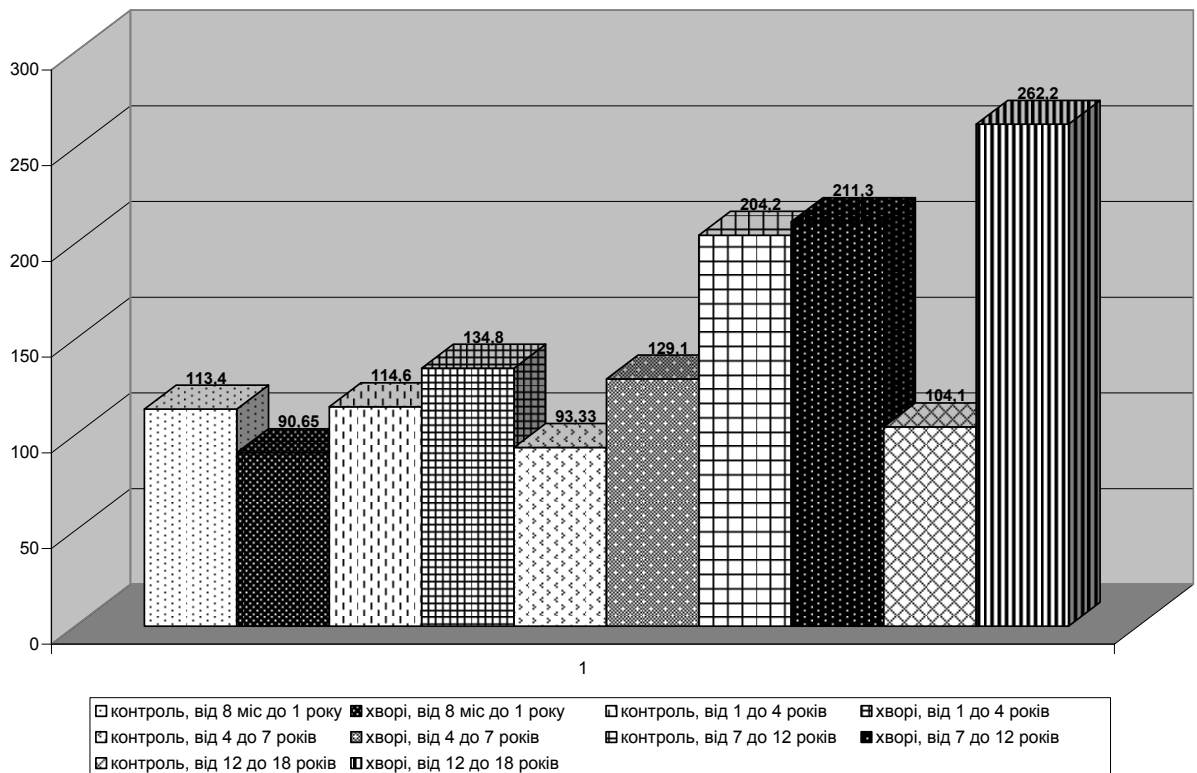


Рис. 5.2. Рівень IGF-1 (пг/л) при ХВГ у дітей різного віку.

Зменшення вироблення IGF-1 у дітей першого року життя вказує на значну загибель гепатоцитів і, безсумнівно, відіграє важливу роль у патогенезі хронізації ВГ у даного контингенту хворих.

Отже, у дітей раннього віку, хворих на ХГВ та ХГС, які були інфіковані вертикальним шляхом, виявлені певні особливості патогенезу даної патології. При помірній активності процесу спостерігається виразне посилення продукції протизапального цитокіну TGF- $\beta$ 1, який, як відомо, належить до факторів, які зворотно регулюють імунну відповідь, пригнічує ІЛ-1 залежну проліферацію тимоцитів, ІЛ-2-залежну Т-клітинну і В-клітинну проліферацію, цитокін-індуковну активність макрофагів, проліферацію і генерацію NK та цитотоксичних лімфоцитів, інгібує експресію молекул головного комплексу гістосумісності HLA II класу на різних типах клітин, є антагоністом основних прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  та ІНФ- $\gamma$ ). Це вказує на те, що у даній групі дітей клітинна Th1-залежна імунна

відповідь, яка є необхідною для захисту від вірусів, експресується слабо, що сприяє «виживанню» гепатотропних вірусів і надає процесу первиннохронічного перебігу.

Характерною особливістю динаміки цитокінів, що досліджувалися, було зростання IGF-1 у дітей шкільного віку, а, особливо, у підлітків (п'ята група) (див. рис. 5.2). Рівень даного фактору у хворих дітей, віком від 7 до 12 років, в середньому склав  $211,3 \pm 27,1$ , що достовірно перевищувало аналогічні показники у хворих дітей першої-третьої груп, тоді як у пацієнтів, віком від 12 до 18 років, він був найвищим і сягав  $262,2 \pm 12,02$ , що мало достовірну різницю із таким у хворих першої-четвертої груп.

### Резюме

Проведений патогенетичний аналіз цитокінового профілю у дітей із ХВГ встановив його залежність від фази реплікації вірусу. Так при активній реплікації вірусу відбувається гіперпродукція прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8), що вказує на посилення запального процесу у печінці.

На прогредієнтний перебіг ХВГ, незалежно від фази реплікації вірусу, вказує стабільне зростання IL-2. Зменшення концентрації ІФН- $\alpha$ , як у ФР, так і у ФІ/ЛС, засвідчує порушення первинної ланки противірусного імунітету.

Встановлено значне збільшення концентрації TGF- $\beta$ 1 у дітей з активною реплікацією вірусу, що, з одного боку, опосередковано вказує компенсаторну гіперпродукцію протизапальних цитокінів, а з іншого – на інтенсивний фіброгенез.

При проведенні патогенетичного аналізу цитокінового профілю сироватки крові при ХВГ у дітей у віковому аспекті, було встановлено, що найбільш значні порушення розвиваються у дітей першого року життя. Це стосується посилення синтезу таких прозапальних цитокінів, як: TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 та IL-8, з одночасним збільшенням кількості протизапального цитокіну IL-10. Знижений синтез ІФН- $\alpha$ , як фактору первинного противірусного захисту, на нашу думку, відіграє важливу роль у формуванні ПХВГ.

У цитокиновому профілі дітей першого року життя, які інфіковані перинатально, патогенетично значимим є зростання рівня TGF- $\beta$ 1 та зниження – IGF-1, що сприяє первинній хронізації процесу та ранньому фіброзу. Для підлітків характерним є збільшення концентрації IGF-1 та TGF- $\beta$ 1, які в процесі фіброгенезу синтезуються клітинами Купфера та активованими ЗК, що вказує на важливість даних факторів у процесі формування фіброзу печінки. Враховуючи те, що IGF-1 посилює апоптоз ЗК і водночас – проліферацію міофібробластів (активованих ЗК), які відіграють важливу роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки, зростання рівня даного фактору з віком, на нашу думку, є важливим патогенетичним чинником хронізації та прогресування даної патології у пацієнтів шкільного віку, особливо у підлітків, хворих на ХВГ.

Зі збільшенням віку, особливо у групі дітей молодшого шкільного віку та підлітків, цитокиновий дисбаланс згладжується, у першу чергу, за рахунок зменшення продукції прозапальних цитокінів, та збільшення – протизапальних (IL-10 та TGF- $\beta$ 1), що пояснює стихання виразності запальних проявів.

Таким чином, порушення цитокинової регуляції у дітей різного віку обумовлює вікові особливості патогенезу ХВГ.

Результати даного розділу опубліковано у наступних працях [119, 123, 183].

## **РОЗДІЛ 6**

### **ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННОГО СТАТУСУ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ**

Хронічні вірусні гепатити у дітей відносяться до «імунокомпроментуючих» станів, оскільки відомо, що як при ХВГ В, так і при ХВГ С, спостерігаються виразні імунні порушення [320, 408, 498]. Як і при всіх інших вірусних інфекціях, інфікування НВV чи НСV викликає закономірну реакцію з боку Т-лімфоцитів, спрямовану на розпізнавання і пригнічення збудника. Відбувається диференціювання субпопуляцій Т-лімфоцитів, співвідношення яких визначає послідовний розвиток каскаду імунних реакцій [1, 234].

Недосконалість імунної системи у дітей, особливо першого року життя, визначає особливості патогенезу ХВГ. Перебіг ХВГ В та ХВГ С у дітей, інфікованих протягом першого року життя, а також у підлітків має особливості, які пов'язані з імунною відповіддю та цитокіновою регуляцією, механізми якої розкриті неповністю. Імунні порушення, що розвиваються протягом захворювання, можуть мати важливе значення для становлення імунної системи дитини і прогнозу захворювання.

Ми дослідили стан клітинної та гуморальної ланок імунітету у дітей різного віку, хворих на ХВГ, та встановили його вплив на механізми розвитку даної патології.

#### **6.1. Патогенетична характеристика показників клітинного і гуморального імунітету у дітей диспансерної групи, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у залежності від фази реплікації вірусу та активності запального процесу**

При проведенні патогенетичного аналізу показників імунограми дітей, хворих на ХВГВ і С, залежно від фази реплікації вірусу було встановлено ряд

закономірностей. Так, у дітей, вірус в яких перебував у ФР, зареєстрована абсолютна лімфопенія –  $(3,04 \pm 0,27) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(3,79 \pm 0,18) \cdot 10^9/\text{л}$  у контролі; ( $p < 0,05$ ). На цьому тлі відбувалося зменшення абсолютної та відносної кількості окремих субпопуляцій лімфоцитів, а саме : CD3+ (відповідно  $(1,71 \pm 0,18) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(2,36 \pm 0,08) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ) та  $(56,0 \pm 1,75) \%$  проти  $(62,4 \pm 1,16) \%$  ( $p < 0,01$ ), CD4+ (відповідно  $(0,86 \pm 0,09) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(1,39 \pm 0,05) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ) та  $(28,63 \pm 1,02) \%$  проти  $(36,7 \pm 0,72) \%$ ,  $p < 0,001$ ), що вказує на стійкий імунодефіцит клітинної ланки імунітету за рахунок зменшення Th активності. На тлі зменшення абсолютної кількості лімфоцитів зареєстровано зменшення кількості CD16+ в абсолютних величинах, що становило  $(0,71 \pm 0,08) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(0,86 \pm 0,02)$  ( $p < 0,05$ ) (табл. 6.1). Отримані дані підтверджуються встановленими сильними прямими кореляційними зв'язками між абсолютною кількістю лімфоцитів та показником CD3+ ( $r=0,96$ ;  $p < 0,001$ ), CD4+ ( $r=0,94$ ;  $p < 0,001$ ), CD16+ ( $r=0,85$ ;  $p < 0,001$ ). Зменшення відсотку CD3+ прямо корелює зі зменшенням CD4+ ( $r=0,98$ ;  $p < 0,001$ ).

Незважаючи на абсолютну лімфопенію у дітей із ФР вірусу кількість Т-ефекторів (CD8+), які виконують цитотоксичну функцію у відношенні до вірус-інфікованих гепатоцитів, зареєстровано збільшення їх відсотку ( $(27,37 \pm 0,8) \%$  проти  $(23,96 \pm 0,50) \%$ ,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.1), що вказує на активацію цитотоксичних реакцій у дану фазу патологічного процесу.

Також слід відзначити тенденцію до зростання показника CD25+ в абсолютних величинах паралельно із суттєвим збільшенням їх відсотку, що склало  $(25,13 \pm 0,95) \%$  проти  $(17,67 \pm 0,44) \%$  ( $p < 0,001$ ) та може вказувати на збільшення активності ІЛ-2 (див. табл. 6.1).

Тоді як у пацієнтів, вірус у яких перебував у ФІ/ЛС, кількість лімфоцитів в абсолютних величинах була достовірно більшою ніж така у дітей із ФР –  $(4,05 \pm 0,23) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(3,04 \pm 0,27) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ). Також слід відмітити суттєве зниження відсотку НК у ФІ до  $(15,40 \pm 0,52) \%$  проти  $(22,26 \pm 0,89) \%$  ( $p < 0,001$ ) у ФР, що може вказувати на пригнічення цитотоксичних реакцій, спрямованих на знищення інфікованих вірусом

клітин у відповідь на припинення реплікації вірусу. За рахунок більшої кількості лімфоцитів у абсолютних величинах у дітей, хворих на ХВГ, у ФІ вірусу зареєстрована достовірна різниця абсолютних показників CD22+ ((1,13±0,14)·10<sup>9</sup>/л проти (0,79±0,08)·10<sup>9</sup>/л (p<0,05)) у ФР, а також тенденція до зростання кількості CD25+ у ФР вірусу (див. табл. 6.1).

Таблиця 6.1

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у периферичній крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, залежно від фази захворювання, (M±m)**

Показники	Контроль, n=63	Фаза реплікації, n=34	Фаза інтеграції (латентна стадія), n=16	p
Лейкоцити · 10 <sup>9</sup> /л	6,90±0,25	7,31±0,41	10,06±0,72***	<0,01
Лімфоцити, abs	3,79±0,18	3,04±0,27**	4,05±0,23	<0,05
Лімфоцити, %	54,9±1,64	40,0±2,13***	41,20±1,9***	>0,05
CD3+, abs	2,36±0,08	1,71±0,18***	2,18±0,16	>0,05
CD3+, %	62,4±1,16	56,0±1,75**	53,80±2,25***	>0,05
CD4+, abs	1,39±0,05	0,86±0,09***	1,07±0,08**	>0,05
CD4+, %	36,7±0,72	28,63±1,02***	26,40±1,28***	>0,05
CD8+, abs	0,88±0,03	0,85±0,09	1,10±0,08**	>0,05
CD8+, %	23,96±0,50	27,37±0,8***	27,20±1,11**	>0,05
CD16+, abs	0,86±0,02	0,71±0,08*	0,61±0,02***	>0,05
CD16+, %	22,67±0,19	22,26±0,89	15,40±0,52***	<0,001
CD22+, abs	0,69±0,06	0,79±0,08	1,13±0,14**	<0,05
CD22+, %	18,25±0,79	25,68±0,94***	26,80±1,80***	>0,05
CD25+, abs	0,67±0,02	0,79±0,08	1,03±0,07***	=0,059
CD25+, %	17,67±0,44	25,13±0,95***	26,40±2,16***	>0,05
CD3+/22	3,41±0,02	2,18±0,02***	2,01±0,05***	>0,05
CD4+/8 (IPI)	1,56±0,02	1,04±0,02***	0,97±0,03***	<0,05
IgA, г/л	1,07±0,20	1,57±0,18	1,84±0,33	>0,05
IgM, г/л	0,82±0,06	1,18±0,08***	1,16±0,09*	>0,05
IgG, г/л	11,43±0,46	14,91±1,50**	14,89±1,69**	>0,05

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* – p<0,05, \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001).

Збільшення відсотку CD8+ на тлі суттєво зниженої кількості CD4+ призвело до зниження IPI – співвідношення відсотку Т-хелперів до

Т-ефекторів, як у ФР ( $1,04 \pm 0,02$ ,  $p < 0,001$ ), так і у ФІ/ЛС ( $0,97 \pm 0,03$ ,  $p < 0,001$ ). Слід відмітити, що більш глибоке порушення зі сторони ІРІ наставало у дітей із ЛС при ХВГ С та ФІ при ХВГ В ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 6.1). Рівень CD8+ знаходиться в оберненій кореляційній залежності з показником ІРІ ( $r = -0,45$ ,  $p = 0,018$ ), тоді як відсоток CD4+ – у прямій ( $r = 0,38$ ,  $p = 0,049$ ), що підтверджує отримані нами результати.

Звертає увагу достовірне збільшення відсотку В-лімфоцитів (CD22+), що вказує на переважання гуморальної ланки імунітету як у ФР ( $(25,68 \pm 0,94)$  % проти  $(18,25 \pm 0,79)$  % у контролі,  $p < 0,001$ ), так і у ФІ вірусу ( $26,80 \pm 1,80$ ,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.1). Між показниками CD8+ та CD22+ існує прямий кореляційний зв'язок ( $r = 0,43$ ,  $p = 0,024$ ), тобто збільшення відсотку Т-ефекторних клітин незалежно від реплікативної активності вірусу ( $(27,37 \pm 0,8)$  % у ФР проти  $(23,96 \pm 0,50)$  % у контролі ( $p < 0,001$ ),  $(27,20 \pm 1,11)$  % у ФІ ( $p < 0,001$ )) відбувається паралельно зі збільшенням відсотку В-лімфоцитів.

У ФІ збільшувалась абсолютна  $((1,03 \pm 0,07) \cdot 10^9$ /л проти  $(0,67 \pm 0,02) \cdot 10^9$ /л у контролі ( $p < 0,001$ ) та відносна  $((26,40 \pm 2,16)$  % проти  $(17,67 \pm 0,44)$  % ( $p < 0,001$ ) кількість Th, які експресують антиген CD25+, тобто мають на своїй поверхні активовані рецептори до ІЛ-2 (див. табл. 6.1). Збільшення кількості даних клітин в абсолютних величинах знаходиться в сильному прямому кореляційному зв'язку з CD8+ ( $r = 0,90$ ,  $p < 0,001$ ) та CD22+ ( $r = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ). Тобто, можна передбачити, що посилення синтезу ІЛ-2, опосередкованим свідченням чого є експресія високо афінних рецепторів до даного цитокіну на Th (CD25+), стимулює проліферацію і диференціювання Т- і В-лімфоцитів у клітини-ефектори, посилює синтез цитокінів і антитіл, активує моноцити і макрофаги, підвищує цитотоксичну активність клітин. Кількість CD8+ та CD22+ в абсолютних величинах також знаходиться в сильних прямих кореляційних зв'язках ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,001$ ), що підтверджує нашу думку.

Незалежно від фази патологічного процесу відбувалося зменшення відсотку лімфоцитів, а також їх окремих субпопуляцій (CD3+, CD4+), зростання рівнів імуноглобулінів, особливо IgM та IgG (див. табл. 6.1).

Встановлено, що вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у периферичній крові дітей, хворих на ХВГ, певною мірою залежить від активності запального процесу. Так із посиленням останньої спостерігається тенденція до збільшення загальної кількості лейкоцитів, достовірне зростання відсотку лімфоцитів ( $33,94 \pm 1,81$ ) % при відсутній та мінімальній активності ( $A_{0+1}$ ) проти ( $46,0 \pm 7,26$ ) % при низькій ( $A_2$ ) ( $p < 0,05$ ), та проти ( $47,0 \pm 3,54$ ) % при помірній та високій ( $A_{3+4}$ ) активності ( $p < 0,01$ ). Паралельно відбувалось збільшення абсолютної кількості CD3+ та CD4+. Характерною була збільшена абсолютна та відносна кількість CD8+ та, особливо, CD16+ у пацієнтів із підвищенням активності трансаміназ (табл. 6.2).

При  $A_0$  та  $A_1$  зареєстрована найменша абсолютна кількість лімфоцитів та їх відсоток, на цьому тлі абсолютна кількість CD3+, CD4+, CD8+ та CD16+ лімфоцитів була знижена. Проте незважаючи на зменшення загальної кількості лімфоцитів, абсолютна кількість В-лімфоцитів не змінювалась, що може вказувати на збільшене їх утворення у кістковому мозку у відповідь на наявність вірусу в організмі. Це відобразилось на зростанні відсотку CD22+ ( $26,56 \pm 0,83$  проти  $18,25 \pm 0,79$  у контролі,  $p < 0,001$ ). В усіх групах, незалежно від ступеня активності запального процесу у печінці, зареєстровано зменшення відсотку CD4+, підвищення – CD22+, CD25+ та імуноглобулінів (див. табл. 6.2). Між показником активності АЛТ та відсотком CD25+ існує прямий кореляційний зв'язок середньої сили ( $r=0,46$ ,  $p=0,024$ ). Це може вказувати на посилення цитолізу гепатоцитів, спричинених підвищенням активності цитотоксичних реакцій, обумовлених проліферацією і диференціюванням Т-ефекторів, внаслідок збільшення виділення ІЛ-2, про що свідчить збільшення CD25+.



Таблиця 6.2

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у  
периферичній крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, у  
залежності від активності запального процесу, (M± m)**

Показники	Контроль, n=63	A <sub>0+1</sub> , n=36	A <sub>2</sub> , n=6	A <sub>3+4</sub> , n=8	p2-p3	p2-p4	p3-p4
Лейкоцити · 10 <sup>9</sup> /л	6,90±0,25	7,0±0,52	8,4±0,88	8,13±0,6	>0,05	>0,05	>0,05
Лімфоцити, abs	3,79±0,18	2,53±0,26 <sup>**</sup> *	3,91±0,80	3,82±0,42	=0,05 6	<0,05	>0,05
Лімфоцити, %	54,9±1,64	33,94±1,81 <sup>***</sup>	46,0±7,26	47,0±3,54	<0,05	<0,01	>0,05
CD3+, abs	2,36±0,08	1,36±0,14 <sup>**</sup> *	2,29±0,48	2,34±0,43	<0,05	<0,01	>0,05
CD3+, %	62,4±1,16	55,83±1,71 <sup>**</sup>	58,5±2,51	58,75±3,98	>0,05	>0,05	>0,05
CD4+, abs	1,39±0,05	0,68±0,07 <sup>**</sup> *	1,16±0,25	1,17±0,21	<0,05	<0,01	>0,05
CD4+, %	36,7±0,72	28,44±1,03 <sup>***</sup>	29,5±1,27 <sup>**</sup>	29,50±1,93 <sup>*</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
CD8+, abs	0,88±0,03	0,68±0,08 <sup>**</sup>	1,12±0,22	1,17±0,02 <sup>*</sup>	<0,05	<0,05	>0,05
CD8+, %	23,96±0,50	27,33±0,77 <sup>***</sup>	29,0±1,29 <sup>**</sup>	29,25±2,09 <sup>*</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
CD16+, abs	0,86±0,02	0,46±0,05 <sup>**</sup> *	1,05±0,2 <sup>*</sup>	0,91±0,18	<0,00 1	<0,01	>0,05
CD16+, %	22,67±0,19	18,78±0,79 <sup>***</sup>	27,0±0,88 <sup>**</sup> *	22,50±2,66	<0,001	=0,081	>0,05
CD22+, abs	0,69±0,06	0,68±0,08	1,06±0,26	0,96±0,17	>0,05	>0,05	>0,05
CD22+, %	18,25±0,79	26,56±0,83 <sup>***</sup>	25,75±2,53 <sup>**</sup>	24,25±2,93 <sup>*</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
CD25+, abs	0,67±0,02	0,70±0,07	1,0±0,22 <sup>**</sup>	0,89±0,10 <sup>**</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
CD25+, %	17,67±0,44	27,33±1,04 <sup>***</sup>	26,0±1,76 <sup>**</sup> *	23,50±1,77 <sup>*</sup> **	>0,05	>0,05	>0,05
CD3+/22+	3,41±0,02	2,10±0,08 <sup>**</sup> *	2,28±0,13 <sup>**</sup> *	2,43±0,11 <sup>**</sup>	>0,05	<0,05	>0,05
CD4+/8 (IPI)	1,56±0,02	1,03±0,05 <sup>**</sup> *	1,02±0,04 <sup>**</sup> *	1,01±0,05 <sup>***</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
IgA, г/л	1,07±0,20	1,72±0,19 <sup>*</sup>	1,85±0,61	1,13±0,22	>0,05	>0,05	>0,05
IgM, г/л	0,82±0,06	1,09±0,07 <sup>**</sup>	1,23±0,17	1,36±0,17 <sup>**</sup>	>0,05	>0,05	>0,05
IgG, г/л	11,43±0,46	16,21±1,27 <sup>***</sup>	19,82±4,90 <sup>***</sup>	12,87±4,27	>0,05	>0,05	>0,05

Примітки :

1.  $A_{0+1}$  – відсутня та мінімальна активність,  $A_2$  – низька активність,  $A_{3+4}$  – помірна та висока активність;
2. \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Отже, зі збільшенням активності запалення відмічається достовірне зростання рівнів  $CD8^+$  та  $CD16^+$  ( $r=0,86$ ,  $p < 0,001$ ), які з одного боку сприяють елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняють прогресуюче ураження гепатоцитів, що посилює синдром цитолізу.

## 6.2. Вікові особливості імунопатогенезу хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей

Аналіз результатів проведених досліджень загальної кількості лімфоцитів у крові показав, що у дітей 1 року життя, хворих на ХВГ, спостерігається менша абсолютна кількість лімфоцитів –  $(4,92 \pm 0,27) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(6,31 \pm 0,45) \cdot 10^9/\text{л}$  у контрольні ( $p < 0,05$ ) та, особливо - їх відсоток  $(53,33 \pm 1,78) \%$  проти  $(70,50 \pm 3,79) \%$  ( $p < 0,001$ ) (табл. 6.3), що підтверджується існуванням сильного прямого кореляційного зв'язку між абсолютною та відносною їх кількістю ( $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ).

Таблиця 6.3

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові дітей, віком від 8 місяців до 1 року (перша група), хворих на ХВГ, ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль, n=10	Хворі на ХВГ, n=10	p
Лейкоцити $\cdot 10^9/\text{л}$	8,95±1,75	9,43±0,65	>0,05
Лімфоцити, abs	6,31±0,45	4,92±0,27	<0,05
Лімфоцити, %	70,5±3,79	53,33±1,78	<0,001
CD3+, abs	4,14±0,17	2,97±0,23	<0,001
CD3+, %	65,56±4,26	60,01±2,52	>0,05
CD4+, abs	2,49±0,14	1,48±0,12	<0,001
CD4+, %	39,42±1,52	30,08±1,33	<0,001
CD8+, abs	1,46±0,12	1,48±0,11	>0,05
CD8+, %	23,17±1,91	30,04±1,22	<0,01
CD16+, abs	1,35±0,18	1,28±0,07	>0,05
CD16+, %	23,14±0,18	26,33±0,91	<0,01
CD22+, abs	1,30±0,17	1,40±0,06	>0,05
CD22+, %	20,67±1,25	29,12±1,21	<0,001
CD25+, abs	0,85±0,21	1,12±0,12	>0,05
CD25+, %	13,44±0,56	22,33±0,67	<0,001
CD3+/CD22+	3,17±0,21	2,07±0,23	<0,001
IPI (CD4+/CD8+)	1,69±0,08	0,99±0,02	<0,001
IgA, г/л	0,49±0,03	0,79±0,13	<0,05
IgM, г/л	0,76±0,09	1,08±0,11	<0,05
IgG, г/л	7,5±0,66	17,91±1,47	<0,001

При вивченні експресії поверхневих антигенів на лімфоцитах крові у дітей даної вікової групи виявлено достовірно меншу абсолютну кількість загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+) –  $(2,97 \pm 0,23) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(4,14 \pm 0,17) \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $p < 0,001$ ) та тенденцію до зниження їх відносного вмісту  $(60,01 \pm 2,52) \%$  проти  $(65,56 \pm 4,26 \%)$  ( $p > 0,05$ ), а також CD4+ – відповідно  $(1,48 \pm 0,12) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(2,49 \pm 0,14) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ) та  $(30,08 \pm 1,33) \%$  проти  $(39,42 \pm 1,52) \%$  ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.3). Це підтверджується існуванням прямих кореляційних зв'язків між абсолютною ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,001$ ) та відотною ( $r = 0,98$ ,  $p < 0,001$ ) кількістю CD3+ та CD4+-лімфоцитів.

Слід відзначити достовірно більший відсоток клітин, які експресують антигени CD8+  $(30,04 \pm 1,22) \%$  проти  $(23,17 \pm 1,91) \%$  ( $p < 0,01$ ), CD16+  $(26,33 \pm 0,91) \%$  проти  $(23,14 \pm 0,18) \%$  ( $p < 0,01$ ) та CD25+  $(22,33 \pm 0,67) \%$  проти  $(13,44 \pm 0,56) \%$  ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.3). Збільшений відсоток Т-ефекторів (CD8+) та NK (CD16+,  $r = 0,30$ ) у хворих першого року життя вказує на підвищення активності цитотоксичних реакції у відповідь на наявність у макроорганізмі вірусу гепатиту В чи С.

Менший відсоток CD4+ лімфоцитів та більший – CD8+ відобразились у значному зниженні ІРІ, який, за результатами наших досліджень, у здорових дітей першого року життя становив  $(1,69 \pm 0,08)$ , а у дітей першої групи, хворих на ХВГ, він достовірно знижувався і склав  $(0,99 \pm 0,02)$ ,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.3).

Свідченням підвищення ролі гуморальної ланки імунітету над клітинною у дітей першого року життя, хворих на ХВГ, є збільшена кількість В-лімфоцитів, які експресують антиген CD22+  $(29,12 \pm 1,21) \%$  проти  $(20,67 \pm 1,25) \%$  ( $p < 0,001$ ), а також достовірне зменшення співвідношення загальної кількості Т-лімфоцитів до В-лімфоцитів (CD3+/CD22+), як опосередкованого показника активності клітинного та гуморального імунітету, відбувалось у 1,5 раза (від  $3,17 \pm 0,21$  в осіб контрольної групи до  $2,07 \pm 0,23$  у хворих дітей,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.3). Такі зміни імунологічних

показників вказують на існуючі порушення між клітинною та гуморальною ланками імунної системи у дітей першого року життя із ХВГ В і С.

Наявність МЗС при ХВГ у дітей першого року життя підтверджувалась достовірно високим рівнем усіх сироваткових імуноглобулінів, що досліджувалися. Так рівень IgA склав  $0,79 \pm 0,13$  проти  $0,49 \pm 0,03$  г/л у здорових дітей ( $p < 0,05$ ), IgM –  $1,08 \pm 0,11$  проти  $0,76 \pm 0,09$  г/л ( $p < 0,05$ ), IgG –  $(17,91 \pm 1,47)$  проти  $(7,5 \pm 0,66)$  г/л ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.3). Проте антитіла не можуть забезпечити елімінацію вірусів гепатиту В і С, оскільки, як відомо, вони не володіють достатньою вірус-нейтралізуючою активністю.

У дітей другої групи, віком від 1 до 4 років, хворих на ХВГ, на тлі збільшеної загальної кількості лейкоцитів периферичної крові ( $8,95 \pm 0,11$  проти  $6,93 \pm 1,69 \cdot 10^9$ /л у контрольній групі,  $p < 0,001$ ) спостерігається значне зниження як абсолютної ( $3,61 \pm 0,18$ ) проти  $(4,44 \pm 0,14) \cdot 10^9$ /л у контролі ( $p < 0,001$ ), так і кількості лімфоцитів у відсотках ( $40,1 \pm 1,5$ ) % проти  $(64,13 \pm 3,87)$  % ( $p < 0,001$ ) (табл. 6.4).

При порівнянні отриманих результатів імунологічного обстеження у хворих дітей другої вікової групи та практично здорових дітей цього віку, як і у пацієнтів першої групи, виявлено помірне зниження абсолютної кількості CD3+  $(2,15 \pm 0,18) \cdot 10^9$ /л проти  $(2,74 \pm 0,12) \cdot 10^9$ /л ( $p < 0,01$ ), та незначне - їх вмісту у відсотках ( $58,06 \pm 1,99$ ) % проти  $(61,67 \pm 2,35)$  %, ( $p > 0,05$ ). Достовірно знижувалась субпопуляція Th з експресією CD4+, що знайшло своє відображення як у абсолютних  $(1,06 \pm 0,08) \cdot 10^9$ /л проти  $(1,61 \pm 0,19) \cdot 10^9$ /л ( $p < 0,05$ ), так і у відносних показниках ( $29,07 \pm 1,1$ ) % проти  $(36,22 \pm 2,39)$  % ( $p < 0,01$ ). На тлі незначного і недостовірного зниження абсолютної кількості CD8+  $(1,04 \pm 0,09) \cdot 10^9$ /л проти  $(1,17 \pm 0,19) \cdot 10^9$ /л ( $p > 0,05$ ), зареєстроване достовірно підвищення їх вмісту у відсотках ( $29,03 \pm 0,98$ ) % проти  $(26,28 \pm 0,83)$  % ( $p < 0,05$ ). ІРІ у дітей даної групи зменшувався до  $(1,0 \pm 0,03)$  проти  $(1,41 \pm 0,12)$  у дітей контрольної групи ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6.4).

Спостерігалась тенденція до зменшення кількості клітин, що мають поверхневий антиген CD16+ (NK-клітини), як в абсолютних -  $(0,66 \pm 0,02)$

проти  $(0,93 \pm 0,23) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ), так і у відносних величинах  $(19,5 \pm 1,62) \%$  проти  $(21,11 \pm 2,41) \%$  ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 6.4).

Таблиця 6.4

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів  
периферичної крові дітей, віком від 1 до 4 років (друга група), хворих на  
ХВГ, (M $\pm$ m)**

Показники	Контроль, n=18	Хворі на ХВГ, n=16	p
Лейкоцити $\cdot 10^9/\text{л}$	6,93 $\pm$ 1,69	8,95 $\pm$ 0,11	<0,001
Лімфоцити, abs	4,44 $\pm$ 0,14	3,61 $\pm$ 0,18	<0,001
Лімфоцити, %	64,13 $\pm$ 3,87	40,1 $\pm$ 1,5	<0,001
CD3+, abs	2,74 $\pm$ 0,12	2,15 $\pm$ 0,18	<0,01
CD3+, %	61,67 $\pm$ 2,35	58,06 $\pm$ 1,99	>0,05
CD4+, abs	1,61 $\pm$ 0,19	1,06 $\pm$ 0,08	<0,05
CD4+, %	36,22 $\pm$ 2,39	29,07 $\pm$ 1,1	<0,01
CD8+, abs	1,17 $\pm$ 0,19	1,04 $\pm$ 0,09	>0,05
CD8+, %	26,28 $\pm$ 0,83	29,03 $\pm$ 0,98	<0,05
CD16+, abs	0,93 $\pm$ 0,23	0,66 $\pm$ 0,02	>0,05
CD16+, %	23,11 $\pm$ 2,41	19,5 $\pm$ 1,62	>0,05
CD22+, abs	0,96 $\pm$ 0,27	1,09 $\pm$ 0,09	>0,05
CD22+, %	21,67 $\pm$ 1,15	29,5 $\pm$ 1,12	<0,001
CD25+, abs	0,65 $\pm$ 0,06	0,87 $\pm$ 0,03	<0,01
CD25+, %	14,71 $\pm$ 1,21	24,5 $\pm$ 0,37	<0,001
CD3+/22	2,86 $\pm$ 0,21	2,02 $\pm$ 0,22	<0,01
CD4+/8 (IPI)	1,41 $\pm$ 0,12	1,00 $\pm$ 0,03	<0,01
IgA, г/л	0,82 $\pm$ 0,24	1,56 $\pm$ 0,05	<0,01
IgM, г/л	0,89 $\pm$ 0,27	0,86 $\pm$ 0,09	>0,05
IgG, г/л	12,81 $\pm$ 2,13	20,06 $\pm$ 0,55	<0,01

Кількість Т-лімфоцитів, що експресують рецептор до ІЛ-2 (CD25+), у дітей, віком від 1 до 4 років, хворих на ХВГ, становила  $(0,87 \pm 0,03)$  проти  $(0,65 \pm 0,06)$  ( $p < 0,01$ ), а відсоток CD25+ –  $(24,5 \pm 0,37)$  проти  $(14,71 \pm 1,21) \%$  ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.4).

Як і у хворих на ХВГ дітей першого року життя, так і у обстежених, віком від 1 до 4 років, встановлена перевага гуморальної ланки імунітету. Про це свідчить значне підвищення відсотку В-лімфоцитів, що експресують CD22+  $(29,5 \pm 1,12) \%$  проти  $(21,67 \pm 1,15) \%$  ( $p < 0,001$ ), а також зменшення

співвідношення CD3+/CD22+, яке становило  $(2,02 \pm 0,22)$  проти  $(2,86 \pm 0,21)$ ,  $p < 0,01$ ) у контролі. Зростання ролі гуморального імунітету підтверджувалося достовірним підвищенням рівня IgA  $(1,56 \pm 0,05)$  проти  $(0,82 \pm 0,24)$  г/л ( $p < 0,01$ ) та IgG  $(20,06 \pm 0,55)$  проти  $(12,81 \pm 2,13)$  г/л ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6.4).

У дітей третьої групи, віком від 4 до 7 років, хворих на ХВГ, зареєстровано збільшення загальної кількості лейкоцитів периферичної крові  $(9,36 \pm 0,90) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(7,39 \pm 0,47) \cdot 10^9/\text{л}$  у контролі ( $p < 0,05$ ). Проте абсолютна кількість лімфоцитів практично не відрізнялася від здорових дітей даного віку і становила  $(3,28 \pm 0,42) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(3,39 \pm 0,29) \cdot 10^9/\text{л}$  у контролі ( $p > 0,05$ ). Це знайшло відображення у значному зниженні кількості лімфоцитів у відсотках, яка склала  $(34,8 \pm 2,92) \%$  проти  $(45,93 \pm 1,58) \%$  ( $p < 0,01$ ) (Табл. 6.5), тобто наставала відносна лімфопенія.

Значно зменшувалась субпопуляція Т-лімфоцитів із експресією поверхневих антигенів CD3+ та CD4+. Так у дітей даного віку абсолютна кількість CD3+ становила  $(1,62 \pm 0,21) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(2,05 \pm 0,08) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ) у контролі, відносна –  $(50,01 \pm 2,34) \%$  проти  $(60,53 \pm 2,67) \%$  ( $p < 0,01$ ). Абсолютна кількість Th (CD4+) дорівнювала  $(0,82 \pm 0,10) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(1,20 \pm 0,09) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ). На 29 % зменшувалась відносна їхня кількість, що становило  $(25,2 \pm 1,02) \%$  проти  $(35,47 \pm 2,14) \%$  ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.5). Отже, дітям даного віку із ХВГ притаманний стійкий імунодефіцит, характерною ознакою якого є зменшення кількості Th.

Спостерігалась тенденція до підвищення Т-ефекторів, що експресують CD8+, абсолютна кількість яких становила  $(0,81 \pm 0,11) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(0,75 \pm 0,06) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ), кількість у відсотках –  $(24,8 \pm 1,34) \%$  проти  $(22,27 \pm 2,59) \%$  ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 6.5).

У хворих дітей даної підгрупи спостерігалось зменшення співвідношення CD4+/CD8+ яке становило  $(1,02 \pm 0,03)$  проти  $(1,59 \pm 0,11)$ ,  $p < 0,001$ ) у практично здорових дітей. Зниження ІРІ відбувалось головним чином за рахунок значного зменшення Th, а також, меншою мірою, за рахунок помірною зростання Т-ефекторів (див. табл. 6.5).

Таблиця 6.5

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів  
периферичної крові дітей, віком від 4 до 7 років (третя група), хворих на  
хронічні вірусні гепатити В та С, (M±m)**

Показники	Контроль, n=14	Хворі на ХВГ, n=10	p
Лейкоцити·10 <sup>9</sup> /л	7,39±0,47	9,36±0,90	<0,05
Лімфоцити, abs	3,39±0,29	3,28±0,42	>0,05
Лімфоцити, %	45,93±1,58	34,8±2,92	<0,01
CD3+, abs	2,05±0,08	1,62±0,21	<0,05
CD3+, %	60,53±2,67	50,01±2,34	<0,01
CD4+, abs	1,20±0,09	0,82±0,10	<0,05
CD4+, %	35,47±2,14	25,2±1,02	<0,001
CD8+, abs	0,75±0,06	0,81±0,11	>0,05
CD8+, %	22,27±2,59	24,8±1,34	>0,05
CD16+, abs	0,39±0,02	0,53±0,04	<0,01
CD16+, %	11,52±0,92	17,6±1,61	<0,01
CD22+, abs	0,56±0,13	0,82±0,18	>0,05
CD22+, %	14,6±1,49	23,04±2,16	<0,01
CD25+, abs	0,52±0,08	0,81±0,07	<0,05
CD25+, %	15,32±2,18	23,2±0,99	<0,01
CD3+/22	4,13±0,31	2,17±0,05	<0,001
CD4+/8 (IPI)	1,59±0,11	1,02±0,03	<0,001
IgA, г/л	1,12±0,17	1,812±0,37	>0,05
IgM, г/л	0,86±0,07	1,162±0,08	<0,05
IgG, г/л	12,82±1,30	18,44±1,61	<0,05

У пацієнтів даної групи кількість НК-клітин (CD16+) була значно збільшена. Так їх абсолютна кількість становила  $(0,53\pm0,04)\cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(0,39\pm0,02)\cdot 10^9/\text{л}$  у контролі ( $p<0,01$ ), кількість у відносних величинах –  $(17,6\pm1,61)\%$  проти  $(11,52\pm0,92)\%$  ( $p<0,01$ ) (див. табл. 6.5). Збільшення кількості CD16+ в абсолютних величинах обернено корелює з IPI ( $r=-0,43$ ,  $p=0,021$ ).

Також у дітей третьої групи, хворих на ХВГ, кількість CD25+ була значно більшою. При цьому їх абсолютна кількість становила  $(0,81\pm0,07)\cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(0,52\pm0,08)\cdot 10^9/\text{л}$  ( $p<0,05$ ) у практично здорових дітей, віком від 4 до 7 років, а відсоток CD25+ –  $(23,2\pm0,99)\%$  проти  $(15,32\pm2,18)\%$



( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6.5). Як абсолютна ( $r = -0,60$ ,  $p = 0,001$ ), так і відносна ( $r = -0,42$ ,  $p = 0,035$ ) кількість CD25+ знаходяться в оберненому кореляційному зв'язку із показником CD4+/CD8+. Тобто зниження ІРІ, яке вказує на порушення імунної кооперації і співвідношення Т-хелперів та Т-ефекторів, характеризується, на нашу думку, компенсаторним збільшенням кількості Т-лімфоцитів, які експресують рецептори до ІЛ-2, оскільки даний цитокін виступає основним фактором росту Т-клітин різних субпопуляцій : Т-хелперів, Т-ефекторів, Т-кілерів, які необхідні для адекватної імунної відповіді на патогенний фактор.

У дітей від 4 до 7 років, хворих на ХВГ, як і у хворих перших трьох років життя, зареєстрована більша кількість В-лімфоцитів периферичної крові та сироваткових імуноглобулінів. Спостерігалась тенденція до збільшення абсолютної кількості CD22+, яка становила  $(0,82 \pm 0,18) \cdot 10^9/\text{л}$  проти  $(0,56 \pm 0,13) \cdot 10^9/\text{л}$  у контролі ( $p > 0,05$ ). Збільшення відсотку клітин, що експресують CD22+, носило достовірний характер  $(23,04 \pm 2,16) \%$  проти  $(14,6 \pm 1,49) \%$  ( $p < 0,01$ ). Свідченням переважання гуморальної ланки імунітету над клітинною у дітей із ХВГ даного віку було зменшення співвідношення CD3+/CD22+ до  $(2,17 \pm 0,05)$  проти  $(4,13 \pm 0,31)$ ,  $p < 0,001$  (див. табл. 6.5), що пояснює тривалу персистенцію вірусу і обумовлює хронізацію патологічного процесу, оскільки антитіла не здатні знищити вірус у макроорганізмі.

Достовірно вищий вміст імуноглобулінів у сироватці крові хворих третьої групи стосувався IgM  $(1,16 \pm 0,08)$  г/л проти  $(0,86 \pm 0,07)$  г/л ( $p < 0,05$ ) та IgG  $(18,44 \pm 1,61)$  г/л проти  $(12,82 \pm 1,30)$  г/л у контролі ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 6.5).

У пацієнтів четвертої групи, віком від 7 до 12 років, загальна кількість лейкоцитів у периферичній крові практично не відрізнялась від групи контролю. Проте слід відмітити, що як абсолютні  $(2,35 \pm 0,38) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ), так і відносні показники кількості лімфоцитів зростали  $(38,75 \pm 2,88) \%$  ( $p > 0,05$ ) (табл. 6.6), тобто, розвивався лімфоцитоз.

Таблиця 6.6

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у периферичній крові дітей, віком від 7 до 12 років (четверта група), хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, (M±m)**

Показники	Контроль, n=12	Хворі на ХВГ, n=5	P
Лейкоцити · 10 <sup>9</sup> /л	5,86±0,36	5,88±0,60	>0,05
Лімфоцити, abs	1,86±0,22	2,35±0,38	>0,05
Лімфоцити, %	31,57±2,81	38,75±2,88	>0,05
CD3+, abs	1,14±0,07	1,18±0,23	>0,05
CD3+, %	61,21±1,54	52,08±1,45	<0,01
CD4+, abs	0,75±0,04	0,59±0,11	>0,05
CD4+, %	35,17±0,82	27,12±1,44	<0,001
CD8+, abs	0,49±0,04	0,58±0,12	>0,05
CD8+, %	26,28±1,41	25,04±2,43	>0,05
CD16+, abs	0,26±0,05	0,51±0,09	<0,05
CD16+, %	14,9±1,20	22,01±2,34	<0,01
CD22+, abs	0,37±0,07	0,56±0,09	>0,05
CD22+, %	19,86±1,12	24,75±1,39	<0,05
CD25+, abs	0,35±0,06	0,77±0,11	<0,01
CD25+, %	17,84±1,50	29,14±1,17	<0,001
CD3+/22	3,05±0,16	2,16±0,17	<0,01
CD4+/8 (IPI)	1,39±0,05	1,06±0,07	<0,01
IgA, г/л	1,37±0,15	2,2±0,41	<0,05
IgM, г/л	0,77±0,05	1,05±0,23	>0,05
IgG, г/л	14,43±0,69	16,88±1,73	>0,05

При дослідженні експресії поверхневих антигенів на лімфоцитах крові дітей даної групи виявлено істотне зменшення відсотку клітин, що експресують CD3+ (52,08±1,45) проти (61,21±1,54) % у контролі (p<0,01) та CD4+ (27,12±1,44) проти (35,17±0,82) % (p<0,001). Спостерігалась тенденція до зменшення абсолютної кількості CD4+ – (0,59±0,11) проти (0,75±0,04) · 10<sup>9</sup>/л (p>0,05) (див. табл. 6.6). Це характеризує стійкий клітинний імунодефіцит Т-хелперної відповіді, як і у хворих попередніх трьох груп.

Результати аналізу експресії поверхневого антигену CD8+ на лімфоцитах периферичної крові хворих дітей даної групи, показали тенденцію до збільшення абсолютної кількості Т-ефекторів (0,58±0,12)

порівняно з контролем  $(0,49 \pm 0,04) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ). Проте констатовано незначне їх зменшення у відносних величинах  $(25,04 \pm 2,43) \%$  проти  $(26,28 \pm 1,41) \%$  ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 6.6).

Як наслідок значного і достовірного зменшення відсотку Th у дітей четвертої групи, хворих на ХВГ, відбувалося зниження співвідношення CD4+ до CD8+, яке становило  $(1,06 \pm 0,07)$  при нормі  $(1,39 \pm 0,05)$ ,  $p < 0,01$  (див. табл. 6.6).

Як і у хворих дітей, віком від 4 до 7 років, так і у пацієнтів у віці від 7 до 12 років, суттєво збільшувалась кількість НК із експресією антигену CD16+, абсолютний показник становив  $(0,51 \pm 0,09)$  проти  $(0,26 \pm 0,05) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ), відносний –  $(22,01 \pm 2,34) \%$  проти  $(13,9 \pm 1,20) \%$  ( $p < 0,01$ ) у здорових дітей даного віку (див. табл. 6.6). Це може вказувати на активацію цитотоксичних реакцій, спрямованих на знищення вірус-інфікованих клітин.

Встановлено суттєве збільшення кількості T-лімфоцитів, що експресують CD25+, яке у абсолютних величинах сягало  $(0,77 \pm 0,11)$  проти  $(0,35 \pm 0,06) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,01$ ), у відносних –  $(29,14 \pm 1,17) \%$  проти  $(17,84 \pm 1,50) \%$  ( $p < 0,001$ ) у дітей контрольної групи (див. табл. 6.6), що відбувається на тлі зростання рівня ІЛ-2, як основного цитокіну Th 1 типу.

У пацієнтів четвертої групи, хворих на ХВГ, експресія антигену CD22+ була також підвищеною. Так абсолютна кількість В-лімфоцитів мала тенденцію до збільшення  $(0,56 \pm 0,09)$  проти  $(0,37 \pm 0,07) \cdot 10^9/\text{л}$  у контролі ( $p > 0,05$ ), тоді як відсоток лімфоцитів CD22+ достовірно зростав  $(24,75 \pm 1,39)$  проти  $(19,86 \pm 1,12) \%$  ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 6.6).

Співвідношення CD3+/CD22+ знижувалось до  $(2,16 \pm 0,17)$ ,  $p < 0,01$ , з одного боку – за рахунок зменшення загальної популяції T-лімфоцитів (CD3+), з другого – завдяки збільшенню кількості В-лімфоцитів (CD22+) (див. табл. 6.6). Зниження даного індексу у хворих від 7 до 12 років, як і у дітей молодшого віку, хворих на ХВГ, доводить переважання гуморальної ланки імунітету, а, отже, неспроможність імунної системи елімінувати вірус із організму.

У хворих дітей даного віку зареєстровано підвищення рівнів усіх досліджуваних імуноглобулінів у сироватці крові, але достовірність різниці підтверджена лише у зростанні IgA ( $2,2 \pm 0,41$ ) г/л проти ( $1,37 \pm 0,15$ ) г/л у контролі ( $p < 0,05$ ). Тенденція до підвищення характерна для IgM ( $1,05 \pm 0,23$ ) г/л проти ( $0,77 \pm 0,05$ ) г/л ( $p > 0,05$ ) та IgG ( $16,88 \pm 1,73$ ) г/л проти ( $14,43 \pm 0,69$ ) г/л ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 6.6).

В осіб, які увійшли до п'ятої групи (хворі на ХВГ, віком від 12 до 18 років), спостерігалось тенденція до збільшення загальної кількості лейкоцитів периферичної крові ( $6,36 \pm 0,66$ ) проти ( $5,87 \pm 0,46$ )  $\cdot 10^9$ /л у контрольній групі ( $p > 0,05$ ), а також тенденція до лімфопенії. Так кількість лімфоцитів незначно зменшувалась ( $34,37 \pm 2,67$ ) % проти ( $39,3 \pm 0,99$ ) % ( $p > 0,05$ ) у порівнянні з особами контрольної групи даного віку (табл. 6.7).

При дослідженні експресії поверхневих антигенів на лімфоцитах крові у пацієнтів даної вікової групи виявлено деяке зниження абсолютної кількості ( $1,27 \pm 0,15$ ) проти ( $1,46 \pm 0,09$ )  $\cdot 10^9$ /л ( $p > 0,05$ ) та відсотку клітин, що експресують CD3+ ( $58,63 \pm 2,75$ ) % проти ( $62,9 \pm 2,53$ ) % ( $p > 0,05$ ). Зменшення загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+) відбувалось за рахунок зареєстрованого достовірного зниження Th (CD4+), як в абсолютних ( $0,63 \pm 0,07$ ) проти ( $0,86 \pm 0,05$ )  $\cdot 10^9$ /л ( $p < 0,05$ ), так і у відносних показниках їх кількості ( $29,25 \pm 1,63$ ) % проти ( $37,1 \pm 1,51$ ) % у контролі ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6.7).

Поряд з цим встановлена тенденція до підвищення абсолютного рівня CD8+ ( $0,64 \pm 0,08$ ) проти ( $0,50 \pm 0,04$ )  $\cdot 10^9$ /л у групі контролю ( $p > 0,05$ ) та достовірне збільшення відсотку лімфоцитів, що експресують вказаний антиген ( $29,25 \pm 1,27$ ) % проти ( $21,68 \pm 1,56$ ) % ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6.7).

На тлі дефіциту Т-хелперів (CD4+) та одночасного збільшення Т-ефекторів (CD8+) у хворих на ХВГ п'ятої групи відбулося зниження ІРІ у 1,7 раза ( $0,99 \pm 0,02$ ) порівняно з ( $1,68 \pm 0,08$ ) у відповідній за віком контрольній групі ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 6.7).

Таблиця 6.7

**Вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів в периферичній крові дітей, віком від 12 до 18 років (п'ята група), хворих на хронічні вірусні гепатити В та С, (M±m)**

Показники	Контроль, n=9	Хворі на ХВГ, n=9	p
Лейкоцити·10 <sup>9</sup> /л	5,87±0,46	6,36±0,66	>0,05
Лімфоцити, abs	2,31±0,15	2,26±0,30	>0,05
Лімфоцити, %	39,3±0,99	34,37±2,67	>0,05
CD3+, abs	1,46±0,09	1,27±0,15	>0,05
CD3+, %	62,9±2,53	58,63±2,75	>0,05
CD4+, abs	0,86±0,05	0,63±0,07	<0,05
CD4+, %	37,1±1,51	29,25±1,63	<0,01
CD8+, abs	0,50±0,04	0,64±0,08	>0,05
CD8+, %	21,68±1,56	29,25±1,27	<0,01
CD16+, abs	0,29±0,03	0,52±0,10	<0,05
CD16+, %	12,64±1,21	19,75±1,29	<0,001
CD22+, abs	0,34±0,04	0,54±0,05	<0,01
CD22+, %	14,51±1,92	25,87±1,86	<0,001
CD25+, abs	0,42±0,05	0,71±0,10	<0,05
CD25+, %	18,2±1,2	31,25±0,95	<0,001
CD3+/22	4,19±0,37	2,32±0,23	<0,01
CD4+/8 (IPI)	1,68±0,08	0,99±0,03	<0,001
IgA, г/л	1,91±0,16	1,67±0,24	>0,05
IgM, г/л	0,92±0,09	1,05±0,15	>0,05
IgG, г/л	14,43±1,17	19,30±2,41	>0,05

У пацієнтів даної вікової групи зареєстровано значне достовірне збільшення як абсолютних, так і відносних величин CD25+. Це збільшення носило статистично достовірний характер і становило відповідно (0,71±0,10) проти (0,42±0,05)·10<sup>9</sup>/л (p<0,05) та (31,25±0,95) % проти (18,2±1,2) % (p<0,001) у здорових дітей даного віку (див. табл. 6.7).

Також у підлітків, хворих на ХВГ, виявлено суттєве підвищення експресії антигенів CD22+ на лімфоцитах периферичної крові у абсолютних (0,54±0,05) проти (0,34±0,04)·10<sup>9</sup>/л (p<0,01) та відносних значеннях (25,87±1,86) % проти (14,51±1,92) % (p<0,001), що свідчить про переважання

гуморальної ланки імунітету. Підтвердженням цього факту є достовірне зменшення у пацієнтів п'ятої групи співвідношення CD3+/CD22+ у 1,8 раза, яке склало  $(2,32 \pm 0,23)$  % проти  $(4,19 \pm 0,37)$  % ( $p < 0,01$ ) у практично здорових підлітків (див. табл. 6.7).

При дослідженні кількості імуноглобулінів сироватки крові було зареєстровано тенденцію до зменшення рівня сироваткового IgA  $(1,67 \pm 0,24)$  г/л проти  $(1,91 \pm 0,16)$  г/л ( $p > 0,05$ ) у контрольній групі, а також помірне збільшення IgM  $(1,05 \pm 0,15)$  г/л проти  $(0,92 \pm 0,09)$  г/л ( $p > 0,05$ ) та IgG  $(19,30 \pm 2,41)$  г/л проти  $(14,43 \pm 1,17)$  г/л ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 6.7).

При аналізі отриманих даних щодо ступеня імунних порушень було встановлено, що у дітей першої групи, до якої увійшли хворі на ХВГ В і С діти, віком від 8 місяців до 1 року, такі ознаки, як : лімфопенія, зменшення відсотку CD3+ та CD4+, а також збільшення відсотку CD8+ та CD16+ у порівнянні з практично здоровими дітьми даного віку відповідають 1 ступеню. Більш виразні імунні зміни стосувалися збільшення кількості В-лімфоцитів та пов'язане із цим зниження коефіцієнту CD3+/22, а також зниження IPI, носили 2 ступінь. Найбільш вагомим порушенням імунітету було збільшення відсотку Th, які експресують рецептор для ІЛ-2 (CD25+), що є характерним для 3 ступеня імунних порушень (табл. 6.8).

У хворих дітей другої групи, віком від 1 до 4 років, в основному спостерігалися імунні порушення 1 ступеня, за винятком зменшення відсотку загальної кількості лімфоцитів та збільшення В-лімфоцитів, де ці порушення відповідали 2 ступеню, а збільшення відсотку CD25+ – 3 ступеню (див. табл. 6.8).

При порівнянні ступеня імунних розладів у дітей третьої групи, віком від 4 до 7 років, зменшення відсотку CD3+ (1 ступінь) та збільшення відсотку CD22+ (2 ступінь) призвели до виразнішого порушення співвідношення CD3+/CD22+ (2 ступінь). Аналогічна тенденція стосувалася і IPI, зниження якого відповідало другому ступеню імунних порушень за рахунок зменшення відсотку Th (1 ступінь) та збільшення відсотку Т-ефекторів (1 ступінь).

Зростання відсотку натуральних кілерів (CD16+) та Th із експресією рецептору до ІЛ-2 (CD25+) відповідало імунним розладам другого ступеня (див. табл. 6.8).

Таблиця 6.8

**Ступінь імунних порушень у дітей, хворих на ХВГ,  
у залежності від віку (%)**

Показник	Група хворих				
	Перша (діти від 8 міс до 1 року)	Друга (від 1 до 4 років)	Третя (від 4 до 7 років)	Четверта (від 7 до 12 років)	П'ята (від 12 до 18 років)
Лімфоцити, %	-24,35 (1)	-37,47 (2)	-24,23 (1)	+22,74 (1)	-12,54 (1)
CD3+, %	-8,47 (1)	-5,85 (1)	-17,38 (1)	-14,92 (1)	-6,79 (1)
CD4+, %	-23,69 (1)	-19,74 (1)	-28,95 (1)	-22,89 (1)	-21,16 (1)
CD8+, %	+29,65 (1)	+10,46 (1)	+11,36 (1)	-4,72 (1)	+34,92 (2)
CD16+, %	+13,78 (1)	-7,63 (1)	+52,78 (2)	+58,35 (2)	+56,25 (2)
CD22+, %	+40,88 (2)	+36,13 (2)	+57,81 (2)	+24,62 (1)	+78,29 (3)
CD25+, %	+66,15 (3)	+66,55 (3)	+51,44 (2)	+63,34 (2)	+71,70 (3)
CD3+/22	-34,70 (2)	-29,37 (1)	-47,46 (2)	-29,18 (1)	-44,63 (2)
CD4+/8	-41,42 (2)	-29,08 (1)	-35,85 (2)	-23,74 (1)	-41,07 (2)

Примітка. Знак «+» означає збільшення показника у порівнянні з практично здоровими дітьми певного віку; знак «-» показує зменшення показника у порівнянні з практично здоровими дітьми певного віку.

У дітей четвертої групи, хворих на ХВГ, віком від 7 до 12 років, імунні розлади були найменш виразними, і переважним чином характеризувалися першим ступенем. Як виняток – збільшення відсотку CD16+ відповідало другому ступеню імунних порушень (див. табл. 6.8).

Привертають увагу найглибші порушення показників імунної системи, що розвивалися у підлітків, які увійшли до п'ятої групи. Так імунні розлади у дітей 12-18 років характеризувалися здебільшого другим та третім ступенем, а саме збільшення відсотку В-лімфоцитів (CD22+) та Th, які експресують рецептор для ІЛ-2 (CD25+) відповідає третьому – найбільш виразному ступеню імунних зрушень; а збільшення відсотку Т-ефекторів (CD8+), NK

(CD16+), зниження співвідношення Т-хелперів до Т-ефекторів (CD4+/CD8+), а також співвідношення загальної популяції Th до В-лімфоцитів (CD3+/22) відповідає другому ступеню розладів імунної системи (див. табл. 6.8).

Таким чином, аналіз результатів проведених досліджень засвідчив, що на тлі ХВГ практично у всіх вікових групах (за винятком дітей від 7 до 12 років) спостерігається збільшення загальної кількості лейкоцитів. Проте абсолютна кількість лімфоцитів не збільшувалась, а, навпаки, достовірно зменшувалась як у дітей першого року життя ( $p < 0,05$ ), так і у віці від 1 до 4 років ( $p < 0,001$ ). Кількість лімфоцитів у відносних величинах зменшувалась у більшості хворих. У першу чергу це стосується дітей молодшого віку, тобто, віком від 8 місяців до 7 років, в яких таке зменшення носило статистично достовірний характер, тоді як у дітей шкільного віку (від 7 до 18 років) відсоток лімфоцитів достовірно не відрізнявся від груп контролю відповідного віку (див. табл. 6.3-6.7).

Суттєві зміни у хворих на ХВГ дітей стосувалися показників клітинного імунітету. Слід підкреслити, що у дітей усіх вікових груп виявлено зменшення як абсолютної (рис. 6.1), так і відсоткової (рис. 6.2) кількості CD3+ і CD4+-лімфоцитів, що може свідчити про певне пригнічення специфічного противірусного імунітету. Що стосується цитотоксичних Т-ефекторів (CD8+), то їх кількість зростала у дітей усіх вікових груп, хворих на ХВГ, за винятком незначного і недостовірного зменшення їх кількості у дітей, віком від 7 до 12 років. Зменшення відсотку CD4+ та збільшення – CD8+ відобразилось на ІРІ, який знижувався без виключення у дітей усіх вікових груп (див. табл. 6.3-6.7).

Незважаючи на зменшення загальної субпопуляції Т-лімфоцитів (CD3+), у тому числі CD4+, у хворих усіх вікових груп зареєстровано достовірне зростання Th, що експресують антиген CD25+. Це відображається як в абсолютних (див. рис. 6.1), так і відносних їх величинах (див. рис. 6.2).



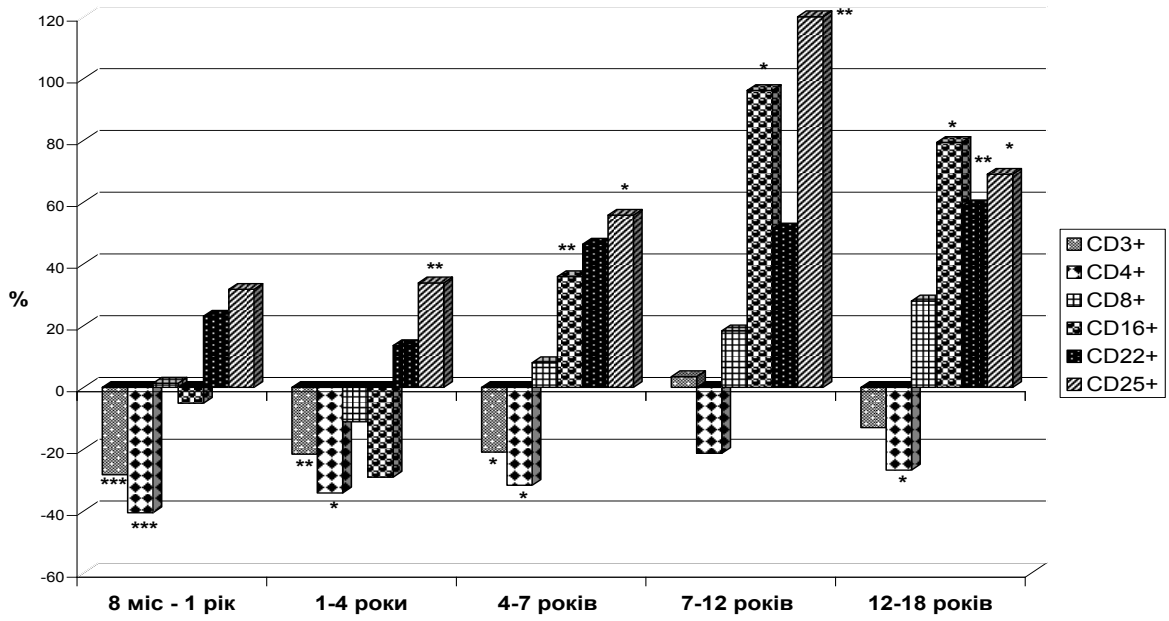


Рис. 6.1. Вікова динаміка субпопуляцій лімфоцитів ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) периферичної крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.

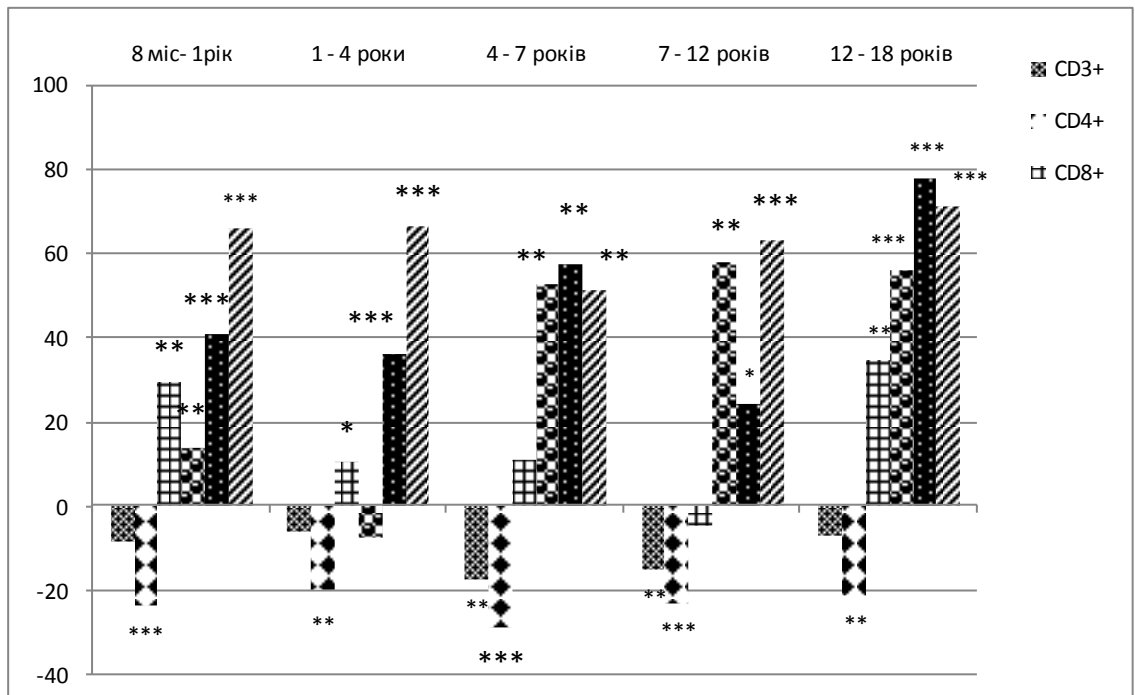


Рис. 6.2. Вікова динаміка субпопуляцій лімфоцитів (%) периферичної крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.

Достовірно збільшення кількості НК-клітин (CD16+) у дітей третьої, четвертої та п'ятої вікових груп у порівнянні зі здоровими дітьми як в абсолютних (див. рис. 6.1), так і відносних величинах (див. рис. 6.2) свідчить про активацію протівірусного імунітету, а також про можливість ушкодження гепатоцитів у пацієнтів даного віку за цитотоксичним механізмом.

Встановлено, що на тлі ХВГ, незалежно від віку хворої дитини, відбувається пригнічення клітинної ланки імунітету і активація гуморальних механізмів імунної реакції. Підтвердженням цього є достовірне збільшення у дітей усіх груп відсотку В-лімфоцитів (див. рис. 6.2). Свідченням переважання гуморальної ланки імунітету у хворих на ХВГ В і С є достовірне підвищення у сироватці крові вмісту імуноглобулінів, особливо IgA та G (див. табл. 6.3-6.7).

При порівнянні стану імунної системи у дітей різного віку, хворих на ХВГ, встановлено, що у дітей першої групи (від 8 місяців до 1 року) загальна кількість лейкоцитів периферичної крові, а також абсолютна і відносна кількість лімфоцитів була достовірно найбільшою порівняно із дітьми інших вікових груп. Найменша загальна кількість лейкоцитів та абсолютне число лімфоцитів зареєстровано у дітей четвертої групи (віком від 7 до 12 років). У відносних величинах кількість лімфоцитів була найменша у п'ятій (12-18 років) та четвертій віковій групі (від 7 до 12 років), незначно вища – у дітей третьої групи (від 4 до 7 років) (табл. 6.9). Дана закономірність, на нашу думку, відповідає віковим особливостям складу білої крові, а саме фізіологічному лейкоцитозу у дітей першого року життя.

Оцінюючи абсолютну кількість CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ та CD25+ нами було встановлено, що найвищі показники є характерними для дітей першого року життя, очевидно за рахунок більшої загальної кількості лейкоцитів та лімфоцитів у периферичній крові дітей даної вікової групи. На другому місці за кількістю лейкоцитів, що експресують вказані антигени, знаходяться діти віком від 1 до 4 років, на третьому - від 4 до 7 років.

Таблиця 6.9

## Вікові особливості вмісту субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів сироватки крові у дітей із ХВГ

Показники	1 група (від 8 міс. до 1 року), n=10	2 група (від 1 до 4 років), n=16	3 група (від 4 до 7 років), n=10	4 група (від 7 до 12 років), n=5	5 група (від 12 до 18 років) n=9	p
1	2	3	4	5	6	7
Лейкоцити, ·10 <sup>9</sup> /л	9,43±0,65	8,95±0,11	9,36±0,90	5,88±0,60	6,36±0,66	p1-p4<0,01; p1-p5<0,01; p2-p4<0,001; p2-p5<0,001; p3-p4<0,05; p3-p5<0,05; p4-p5<0,01
Лімфоцити, abs	4,92±0,27	3,61±0,18	3,28±0,42	2,35±0,38	2,26±0,30	p1-p2<0,001; p1-p3<0,01; p1- p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,01; p2-p5<0,001
Лімфоцити, %	53,33±1,78	40,1±1,5	34,8±2,92	38,75±2,8 8	34,37±2,6 7	p1-p2<0,001; p1-p3<0,001; p1- p4<0,001; p1-p5<0,001
CD3+, abs	2,97±0,23	2,15±0,18	1,62±0,21	1,18±0,23	1,27±0,15	p1-p2<0,01; p1-p3<0,001; p1- p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,05; p2-p5<0,01
CD3+, %	60,01±2,52	58,06±1,9 9	50,01±2,3 4	52,08±1,4 5	58,63±2,7 5	p1-p3<0,01; p2-p3<0,05; p3-p5<0,05
CD4+, abs	1,48±0,12	1,06±0,08	0,816±0,1	0,59±0,11	0,63±0,07	p1-p2<0,01; p1-p3<0,001; p1-

			0			p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,01; p2-p5<0,01
CD4+, %	30,08±1,33	29,07±1,1	25,2±1,02	27,12±1,4 4	29,25±1,6 3	p1-p3<0,01; p2-p3<0,05; p3-p5<0,05
CD8+, abs	1,48±0,11	1,04±0,09	0,81±0,11	0,58±0,12	0,64±0,08	p1-p2<0,01; p1-p3<0,001; p1- p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,01; p2-p5<0,01
CD8+, %	30,04±1,22	29,03±0,9 8	24,8±1,34	25,04±2,4 3	29,25±1,2 7	p1-p3<0,01; p3-p5<0,05

*Продовж. табл. 6.9*

1	2	3	4	5	6	7
CD16+, abs	1,28±0,07	0,66±0,02	0,53±0,04	0,51±0,09	0,52±0,10	p1-p2<0,001; p1-p3<0,001; p1- p4<0,001; p1-p5<0,001
CD16+, %	26,33±0,91	19,5±1,62	17,6±1,61	22,01±2,3 4	19,75±1,2 9	p1-p2<0,01; p1-p3<0,001; p1- p5<0,001
CD22+, abs	1,40±0,06	1,09±0,09	0,82±0,18	0,56±0,09	0,54±0,05	p1-p2<0,05; p1-p3<0,01; p1-p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,01; p2-

						p5<0,001
CD22+, %	29,12±1,21	29,5±1,12	23,04±2,1 6	24,75±1,3 9	25,87±1,8 6	p1-p3<0,05; p2-p3<0,01; p2-p4<0,05
CD25+, abs	1,12±0,12	0,87±0,03	0,81±0,07	0,77±0,11	0,71±0,10	p1-p2<0,05; p1-p3<0,05; p1-p5<0,05
CD25+, %	22,33±0,67	24,5±0,37	23,2±0,99	29,14±1,1 7	31,25±0,9 5	p1-p2<0,01; p1-p4<0,001; p1-p5<0,001; p2-p4<0,01; p2-p5<0,001; p3-p4<0,01 p3-p5<0,001
CD3+/22	2,07±0,23	2,02±0,22	2,17±0,05	2,16±0,17	2,32±0,23	>0,05
CD4+/8(IPI)	0,99±0,02	1,00±0,03	1,02±0,03	1,06±0,07	0,99±0,03	>0,05
IgA, г/л	0,79±0,13	1,56±0,05	1,81±0,37	2,2±0,41	1,67±0,24	p1-p2<0,001; p1-p3<0,05; p1-p4<0,001; p1-p5<0,01; p2-p4<0,05
IgM, г/л	1,08±0,11	0,86±0,09	1,16±0,08	1,05±0,23	1,05±0,15	>0,05
IgG, г/л	17,91±1,47	20,06±0,5 5	18,44±1,6 1	16,88±1,7 3	19,30±2,4 1	>0,05

У дітей молодшого та старшого шкільного віку абсолютні кількісні показники субпопуляцій клітин білої крові є практично однаковими і водночас найнижчими у порівнянні з дітьми інших вікових підгруп (див. табл. 6.9).

Протилежна закономірність простежується при аналізі відсоткових величин субпопуляцій Т-лімфоцитів (CD3+), NK (CD16+) та В-лімфоцитів (CD22+) у дітей різного віку. Так кількість CD3+ у відносних величинах у дітей першого року життя практично не відрізняється від аналогічного показника у дітей, віком від 1 до 4 років, а також від 12 до 18 років. Дещо меншим цей показник є у дітей від 7 до 12 років, проте це зниження не носить достовірної різниці. Найменшою була кількість CD3+ у хворих дітей третьої групи (від 4 до 7 років), що достовірно відрізняється від дітей першої, другої та п'ятої груп. Аналогічна ситуація стосується і кількості CD4+ у відсотках – найменша кількість Th зареєстрована у дітей третьої групи. Стосовно субпопуляції CD8+, то найменша її кількість також характерна для дітей, віком від 4 до 7 років. Аналогічне зниження спостерігається й у дітей від 7 до 12 років (див. табл. 6.9).

Кількість NK-клітин (CD16+) у відносних величинах достовірно зростала у всіх хворих дітей, за винятком пацієнтів від 1 до 4 років, в яких їх відсоток незначно зменшувався (див. рис. 6.2). При порівнянні даного показника у дітей різного віку встановлено, що його кількість у відсотках є найбільшою у дітей першого року життя і достовірно перевищує аналогічний показник у дітей від 1 до 4 років ( $p < 0,01$ ), від 4 до 7 років ( $p < 0,001$ ) та 12-18 років ( $p < 0,001$ ), проте практично не відрізняється від аналогічного показника у дітей від 7 до 12 років (див. табл. 6.9).

Інша закономірність виявляється при аналізі відносних величин кількості лімфоцитів, які експресують CD25+ : найменший відсоток даних клітин реєструвався у дітей грудного віку. Відсоток CD25+ у дітей першої групи достовірно відрізнявся від такого у пацієнтів усіх інших вікових груп, за винятком пацієнтів третьої групи, в яких рівень Th, що експресують рецептор до ІЛ-2 (CD25+), теж був низьким. Максимальний відсоток Th, які мають даний рецептор, спостерігався у хворих підлітків, які увійшли до п'ятої та четвертої

груп. Відсоткові показники CD25+ у дітей даних вікових груп достовірно відрізняються від аналогічних у хворих першої, другої та третьої груп (див. табл. 6.9).

Якщо аналізувати вікові особливості кількості CD25+ у абсолютних величинах, то найбільша їх кількість, навпаки, зареєстрована у дітей першого року життя  $(1,12 \pm 0,12) \cdot 10^9/\text{л}$  проти значно меншої їх кількості у дітей, віком від 1 до 4 років  $(0,87 \pm 0,03) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ), від 4 до 7 років  $(0,81 \pm 0,07) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ), від 7 до 12 років  $(0,77 \pm 0,11) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p > 0,05$ ) та від 12 до 18 років  $(0,71 \pm 0,10) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 6.9). Найбільшу абсолютну кількість CD25+ у дітей першого року життя, на нашу думку, можна пояснити більшою загальною кількістю лімфоцитів та CD3+ периферичної крові у даній віковій групі. Тоді як при зменшенні абсолютної кількості лімфоцитів із віком, паралельно відбувається зменшення абсолютної кількості CD25+.

При порівнянні у віковому аспекті кількості В-лімфоцитів у відсотках, що експресують CD22+, був встановлений їх найвищий рівень у дітей першої та другої груп. Тоді ж як у дітей третьої групи їх кількість була достовірно меншою, ніж у дітей перших двох груп (див. табл. 6.9).

Доказом переважання гуморальної ланки імунітету над клітинною було значне зміщення співвідношення CD3+/CD22+ як за рахунок зменшення відсотку Т-лімфоцитів з рецептором CD3+, так і, особливо, за рахунок збільшення відсотку В-лімфоцитів (CD22+) незалежно від віку хворої дитини (див. табл. 6.9).

Таким чином, найнижчі показники клітин периферичної крові, які досліджувались, у відсотках, а саме : загальна кількість Т-лімфоцитів (CD3+), Т-хелпери (CD4+), Т-ефектори (CD8+), особливо - натуральні кілери (CD16+), В-лімфоцити (CD22+) та Th, що експресують рецептор до ІЛ2 (CD25+) зареєстровані у дітей, віком від 4 до 7 років. Це може свідчити про безпосередній вплив імунологічних порушень на механізми хронізації та прогредієнтності перебігу ХВГ у даного контингенту осіб.

У дітей різного віку зареєстровано більш чи менш виразне зменшення кількості CD3+ та CD4+. Зниження загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3+) та, особливо, Th (CD4+), було найбільш типовим порушенням імунітету для дітей усіх вікових груп, хворих на ХВГ. Зважаючи на це, можна вважати, що кількісна і якісна недостатність Т-лімфоцитів, у першу чергу Th (CD4+), може бути однією із ключових ланок імунопатогенезу формування хронічного гепатиту. У дітей першого року життя це може бути пов'язано із незрілістю імунної системи, а у дітей старшого віку – із виснаженням імунної системи через постійну антигенну стимуляцію HBV та HCV. На нашу думку, вказані механізми можуть слугувати основою формування замкнутого кола для дефіциту Т-хелперної відповіді і передумовою прогресування захворювання.

При ХВГ відбуваються істотні зміни у вмісті і співвідношенні імунорегуляторних субпопуляцій Т-клітин. У обстежених нами хворих дітей відбувалося зменшення кількості Т-хелперів (CD4+) із одночасним збільшенням Т-ефекторів (CD8+), що відобразилось на зниженні ІРІ. Проведений аналіз показав, що при ХВГ кількість цитотоксичних CD8+ достовірно зростає у дітей грудного віку (до 1 року), переддошкільного віку (від 1 до 4 років) та підлітків (12-18 років), має тенденцію до збільшення у дітей дошкільного віку (від 4 до 7 років,  $p > 0,05$ ) за винятком незначного і недостовірного їх зниження у дітей молодшого шкільного віку (від 7 до 12 років,  $p > 0,05$ ). Збільшена кількість CD8+ з одного боку свідчить про формування адекватної імунної CD8+-цитотоксичної відповіді на проникнення вірусу, що викликає цитоліз і загибель інфікованих гепатоцитів, а з іншого – буде сприяти розвитку фіброзу печінки. Проте збільшена кількість CD8+ в умовах тривалого ХВГ у обстеженого нами контингенту дітей швидше засвідчує їх якісну неповноцінність і неможливість елімінації HBV та HCV з макроорганізму, оскільки персистенція вірусів триває при наявності активної CD8+-цитотоксичної відповіді, що стає основним механізмом прогресуючого ушкодження печінки.



Опираючись на ці дані можна передбачити, що саме у дітей раннього віку (першого року життя та від 1 до 4 років), а також у підлітків, збільшена кількість цитотоксичних Т-ефекторів спричиняє швидке прогресуюче ушкодження гепатоцитів, що може призвести до розвитку ГПН у даного контингенту хворих та смерті хворої дитини. Підтвердженням цього факту є отримані нами результати аналізу летальних випадків ВГ у дітей, у відповідності з якими найчастіше помирають діти раннього віку, рідше – підлітки. Тоді як у дітей, віком від 4 до 7 років, а також від 7 до 12 років, реєструються поодинокі летальні випадки.

Типовим варіантом перебігу ХВГ у обстежених нами хворих першої, другої, третьої та п'ятої вікових груп був гіпер/нормосупресорний, що характеризується дефіцитом загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3+), переважним зменшенням Th (CD4+), на тлі збільшеної чи нормальної кількості Т-ефекторів (CD8+) (див. рис. 6.1 та 6.2), зниженням ІРІ (див. табл. 6.9), а також високою активністю гуморальної ланки імунітету.

Тенденцію до гіпосупресорного варіанту, що характеризується зменшенням відсотку CD8+, ми спостерігали лише у четвертій групі пацієнтів (віком від 7 до 12 років). Проте це зниження CD8+-лімфоцитів не було достовірним у порівнянні з практично здоровими дітьми (див. рис. 6.2).

Паралельно із активацією цитотоксичних Т-лімфоцитів на мембрані активованого Th відбувалася експресія рецепторів для ІЛ-2 (CD-25), що в подальшому мала активувати проліферацію Т-лімфоцитів. У нашому дослідженні, у хворих на ХВГ усіх вікових груп на тлі зменшення загальної кількості лімфоцитів, загальної субпопуляції Т-лімфоцитів (CD3+) та Th (CD4+), зареєстровано достовірне зростання абсолютних та відносних показників кількості Т-лімфоцитів, що експресують рецептори для ІЛ-2 – CD25+. На нашу думку, експресія рецепторів для ІЛ-2 на Th може бути своєрідною компенсаторною реакцією, пов'язаною із зменшенням CD3+ та CD4+ у дітей як молодшого, так і старшого віку, та бути спрямованою на активацію їх клітинного поділу. Також це явище може бути пов'язано із

активацією цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD8+), відсоток яких у дітей першої, другої та п'ятої груп достовірно підвищується (див. рис. 6.2).

При аналізі вікових особливостей кількісних характеристик даних клітин нами було встановлено, що найменші показники CD25+ у відносних величинах та найбільші – у абсолютних, реєструвались у дітей першого року життя. Тоді як максимальна відносна кількість CD25+ спостерігалась у дітей старшого віку, а саме : у підлітків та дітей від 7 до 12 років, у яких одночасно виявлялися найнижчі абсолютні показники CD25+ (див. табл. 6.9). Кількість CD25+ у абсолютних величинах прямо пропорційно залежить від абсолютної кількості усіх лімфоцитів периферичної крові і є найбільшою як у практично здорових, так і у хворих на ХВГ дітей першого року життя та зменшується з віком, особливо після настання 2-го фізіологічного «перехресту». Тоді як прогресуюче збільшення відсотку CD25+ з віком є досить цікавою знахідкою. Це єдиний із імунологічних показників, що досліджувалися, який зростав із віком. На нашу думку, це можна пояснити компенсаторним збільшенням рівня ІЛ-2, який є одним із центральних цитокінів у реалізації імунної відповіді, що виступає основним фактором росту Т-клітин різних субпопуляцій, стимулює проліферацію і диференціювання Т- і В-лімфоцитів у клітини-ефектори, посилює синтез цитокінів і антитіл, активує моноцити і макрофаги, підвищує цитотоксичну активність клітин.

Нами зареєстроване достовірне збільшення як абсолютної, так і відносної кількості CD16+ у дітей третьої – п'ятої груп (віком від 4 до 18 років) (див. рис. 6.2 та 6.3). Їхнє збільшення, на нашу думку, може бути пов'язано із якісною чи, рідше - кількісною недостатністю CD8+ (у четвертій групі), що обумовлює порушення кооперації імунокомпетентних клітин. Незважаючи на збільшену кількість CD16+ у дітей даних вікових груп, це не забезпечувало елімінації HBV та HCV із макроорганізму. На нашу думку, це може бути пов'язано із зниженою активністю НК-клітин у дітей, хворих на ХВГ.

Довготривала хвороба у більшості обстежених нами хворих може свідчити про відсутність реалізації захисного протифібротичного механізму, обумовленого дією НК.

### **6.3. Кореляційний аналіз показників цитокинового профілю, імунного статусу та біохімічних параметрів при хронічних вірусних гепатитах В та С у дітей різного віку**

При проведенні кореляційного аналізу між показниками цитокинового профілю та імунного статусу було встановлено, що рівень TNF- $\alpha$  знаходиться в прямих кореляційних зв'язках ( $r=0,40$ ,  $p<0,05$ ) з відсотком CD16+ у дітей, хворих на ХВГ, першого року життя, від 4 до 7 років, від 7 до 12, а також від 12 до 18 років, тобто збільшена кількість TNF- $\alpha$  у дітей даних вікових груп активує природні кілери. Крім цього встановлено, що збільшення відсотку CD25+ зворотно регулює вміст TNF- $\alpha$  ( $r=-0,36$ ) та IL-1 у сироватці крові ( $r=-0,31$ ), зменшуючи його у ФІ.

Між кількістю IL-2 у сироватці хворих на ХВГ дітей та абсолютною кількістю CD25+ існує прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,32$ ,  $p<0,01$ ), що вказує на збільшення експресії рецепторів до даного цитокину на поверхні Th.

Обернені кореляційні зв'язки встановлені між IL-4 та відсотком CD3+ ( $r=-0,33$ ,  $p=0,097$ ), CD4+ ( $r=-0,35$ ,  $p=0,08$ ), CD8+ ( $r=-0,34$ ,  $p=0,088$ ), CD25+ ( $r=-0,39$ ,  $p=0,06$ ), тобто, даний цитокін здатний зменшувати проліферацію і дозрівання Т-лімфоцитів.

Збільшення вмісту IL-6 спричиняє збільшення абсолютної ( $r=0,31$ ) та відносної ( $r=0,36$ ) кількості лімфоцитів, загальної популяції Т-лімфоцитів з кластером дезінтеграції CD3+ ( $r=0,41$ ,  $p<0,05$ ) та їх відсотку ( $r=0,37$ ,  $p=0,059$ ), абсолютної ( $r=0,44$ ,  $p<0,05$ ) та відносної кількості Th ( $r=0,33$ ), Т-ефекторів (відповідно  $r=0,40$ ,  $p<0,05$  та  $r=0,44$ ,  $p<0,05$ ), тобто даний цитокін посилює проліферацію і дозрівання Т-лімфоцитів. Також відбувалось збільшення як абсолютної ( $r=0,45$ ,  $p<0,05$ ), так і відносної кількості CD16+ ( $r=0,47$ ,  $p<0,05$ ),

що пояснює роль ІЛ-6 в активації природних кілерів та підтверджується існуванням достовірних кореляційних зв'язків. Поряд із цим наставало збільшення CD22+ як в абсолютних величинах ( $r=0,40$ ,  $p<0,05$ ), так і у відсотках ( $r=0,52$ ,  $p<0,01$ ), тобто ІЛ-6 посилює проліферацію і дозрівання В-лімфоцитів.

Аналогічні ефекти зареєстровані і у відношенні ІЛ-8, який, подібно до ІЛ-6, проте більш виразно, збільшував кількість лімфоцитів як в абсолютних ( $r=0,55$ ,  $p<0,01$ ), так і у відносних величинах ( $r=0,51$ ,  $p<0,01$ ), абсолютну кількість CD3+ ( $r=0,56$ ,  $p<0,01$ ), CD4+ ( $r=0,54$ ,  $p<0,01$ ), CD8+ ( $r=0,57$ ,  $p<0,01$ ), тобто даний цитокін також посилює проліферацію і дозрівання Т-лімфоцитів. Паралельно ІЛ-8 достовірно спричиняв збільшення кількості CD16+ як в абсолютних ( $r=0,58$ ,  $p<0,01$ ), так і відносних ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ) величинах, що посилювало цитотоксичні реакції. Поряд із активацією і дозріванням клітинної ланки імунітету та НК у дітей із ХВГ, зростання вмісту ІЛ-8 достовірно збільшувало вміст В-лімфоцитів, а саме : їх абсолютної кількості CD22+ ( $r=0,59$ ,  $p<0,001$ ) та відсотку ( $r=0,40$ ,  $p<0,05$ ). На відміну від ІЛ-6, ІЛ-8 збільшує кількість CD25+ в абсолютних величинах ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ), що підтверджується існуванням достовірного кореляційного зв'язку.

При даній патології у дітей протизапальний цитокін ІЛ-10 достовірно збільшує відсоток лімфоцитів у периферичній крові ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ), а також відсоток CD16+ ( $r=0,33$ ,  $p=0,09$ ), та зменшує – відсоток CD25+ ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ).

Між величиною ІФН- $\gamma$  та відсотком CD25+ існує сильний обернений кореляційний зв'язок ( $r=-0,70$ ,  $p<0,05$ ), тобто, можна передбачити, що зменшення продукції  $\gamma$ -інтерферону при низькій, помірній та високій активності запального процесу спричиняє збільшення експресії рецепторів до ІЛ-2 на поверхні Th, а, отже, кількості CD25+. Також обернений кореляційний зв'язок встановлений між рівнем сироваткового ІФН- $\gamma$  у хворих на ХВГ дітей та абсолютною і відносною кількістю CD8+ (відповідно  $r=-0,36$  та  $r=-0,40$ ), тобто, на нашу думку, порушення інтерферогенезу при зростанні активності

запалення компенсаторно викликає збільшення вироблення цитотоксичних Т-ефекторів.

Зменшення продукції ІФН- $\alpha$  як при ХВГ В, так і при ХВГ С, особливо у ФР вірусу, спричиняє збільшення абсолютної ( $r=-0,89$ ,  $p<0,05$ ) та відносної кількості ( $r=-0,66$ ) CD25+, що підтверджується наявністю відповідних кореляційних зв'язків. Також зменшення синтезу ІФН- $\alpha$  поєднувалось зі зменшенням відсотку загальної популяції Т-лімфоцитів CD3+ як при ХВГ В, так і при ХВГ С, незалежно від фази реплікації вірусу, особливо у дітей третьої та четвертої вікових груп ( $r=0,64$ ,  $p=0,08$ ). Паралельно зі зменшенням ІФН- $\alpha$  та CD3+, у хворих відбувалось значне достовірне зменшення абсолютної кількості та відсотку CD4+ незалежно від фази реплікації вірусу та віку дітей (відповідно  $r=0,48$  та  $r=0,64$ ).

Достовірні обернені середні за силою кореляційні зв'язки встановлені між кількістю TGF- $\beta$  та популяцією CD3+ ( $r=-0,45$ ,  $p<0,05$ ), CD4+ ( $r=-0,46$ ,  $p<0,05$ ) та CD8+ ( $r=-0,49$ ,  $p<0,01$ ) у відсотках. Тобто гіперпродукція протизапального профіброгенного цитокіну TGF- $\beta$  спричиняє зменшення проліферації та диференціювання вказаних субпопуляцій Т-лімфоцитів, що забезпечує стихання виразності запального процесу.

Аналогічна тенденція спостерігалась і при збільшенні синтезу IGF-1, що, на нашу думку, спричинило зменшення загальної кількості лейкоцитів ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ), абсолютної ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ) та відносної ( $r=-0,36$ ,  $p=0,06$ ) кількості лімфоцитів. Зменшення вироблення лімфоцитів, спричинене високою концентрацією IGF-1, відобразилось на зменшенні абсолютної кількості загальної популяції Т-лімфоцитів CD3+ ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ), Т-хелперів CD4+ ( $r=-0,42$ ,  $p<0,05$ ), Т-ефекторів CD8+ ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ), абсолютної кількості CD25+ ( $r=-0,30$ ), проте збільшення їх відсотку ( $r=0,37$ ,  $p=0,07$ ) та кількості IgM ( $r=0,30$ ,  $p<0,05$ ). Збільшення продукції IGF-1 також спричинило достовірне зменшення як абсолютної ( $r=-0,52$ ,  $p<0,01$ ), так і відносної кількості ( $r=-0,50$ ,  $p<0,01$ ) природних кілерів CD16+, а також кількості В-лімфоцитів у абсолютних величинах ( $r=-0,47$ ,  $p<0,05$ ), що вказує, на нашу думку, на

пригнічення виразності запалення при ХВГ у дітей, спричиненим дією даного фактору росту.

Підвищення рівня  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові, хворих на ХВГ дітей, призводить до збільшення як абсолютного ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ), так і відносного вмісту ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ) природних кілерів, а також обернено корелює з кількістю ІФН- $\alpha$ , що підтверджується нашим дослідженням, оскільки ми спостерігали збільшення концентрації даного онкомаркери та показника ступеня фіброзу паралельно зі зменшенням інтерферогенезу при ХВГ у дітей різного віку.

При встановленні кореляційних зв'язків між біохімічними та імунологічними показниками з'ясовано, що активність АЛТ прямо корелює з відсотком CD25+ ( $r=0,46$ ,  $p<0,05$ ).

### Резюме

Таким чином, проведений патогенетичний аналіз основних показників клітинного та гуморального імунітету у дітей, хворих на ХВГ В і С показав, що існують певні відмінності даних показників у хворих дітей залежно від фази реплікації вірусу та активності запального процесу.

Встановлено, що у ФР реєструється абсолютна лімфопенія, що відображається на зменшенні кількості CD3+, CD4+ та CD16+ – лімфоцитів. Паралельно відбувається збільшення CD8+, що вказує на активацію цитотоксичних реакцій у дану фазу патологічного процесу. Також зареєстроване зростання кількості CD25+, що вказує на збільшення експресії рецепторів до ІЛ-2 на поверхні Th ( $r=0,32$ ,  $p<0,01$ ).

Зі збільшенням активності запалення відмічається достовірне зростання рівнів CD8+ та CD16+, які з одного боку сприяють елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняють прогресуюче ураження гепатоцитів, що посилює синдром імунного цитолізу.

Встановлено, що імунопатогенез ХВГ значною мірою визначається віком хворої дитини, що обумовлює певні вікові особливості клінічної маніфестації, тяжкості перебігу та наслідки захворювання.

У дітей першого року життя, хворих на ХВГ, на тлі зменшення вмісту CD3+, CD4+ відбувається збільшення кількості CD8+, CD16+, CD22+ та CD25+. Проте рівень CD25+ є найменшим, порівняно з хворими старшого віку, що, на нашу думку, свідчить про найбільш інтенсивне пригнічення Th 1 типу саме у дітей першого року життя та цитокінів, які вони виробляють, а також про переважання Th 2 типу і значне достовірне зростання CD22+, що пояснює механізми первинної хронізації ВГ у перинатально інфікованих дітей.

Дітям, віком від 1 до 4 років із ХВГ, притаманні стійкі порушення імунної системи, що характеризуються низьким вмістом CD3+, CD4+, CD8+ на тлі одночасного підвищення В-лімфоцитів, що, на нашу думку, може пояснити відносно високу частоту формування неактивного ХВГ у даному віці.

Для хворих, віком від 4 до 7 років, невелика кількість CD4+, на нашу думку, уповільнює фіброзування печінки, а зменшення абсолютної кількості CD8+ Т-лімфоцитів може відповідати низькій активності гепатиту.

Збільшення кількості CD4+ Th та цитотоксичних CD8+ лімфоцитів у підлітків пояснює швидке прогресування захворювання та формування фіброзу печінки.

Отже, найбільш виразні порушення клітинної та гуморальної ланок імунітету розвиваються у дітей раннього віку та підлітків, що вказує на необхідність віднесення даних вікових груп до груп «ризик» несприятливого перебігу та прогнозу захворювання, і вимагає індивідуального підходу до патогенетичної терапії ХВГ у дітей різного віку.

Результати даного розділу дисертації висвітлено у працях [174, 179, 183].

## РОЗДІЛ 7

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ НАЙБІЛЬШ УЖИВАНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ У ЯКОСТІ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ**

### **7.1. Результати клінічного спостереження за нелікованими тваринами із хронічним токсичним гепатитом**

Результати дослідження показали, що у всіх нелікованих тварин групи порівняння після введення гепатотоксинів протягом шести тижнів розвинувся ХТГ. Свідченням цього була зміна зовнішнього вигляду, погане споживання води та корму, незадовільна динаміка маси тіла, відсоток загиблих тварин.

Так вже на першому та другому тижні від початку експерименту поведінка щурів значно змінилась порівняно з тваринами контрольної групи. Тварини гуртувалися в кутку клітки, в'яло реагували на корм, їли поволі, неактивно, адинамічно рухались по клітці, тремтіли. Шерсть ставала скуйовдженою, втрачала блиск. Через 7 діб від початку експерименту в групі нелікованих тварин почався падіж – із 20 тварин загинула 1 (табл. 7.1). Через сім днів введення гепатотоксинів маса тіла нелікованих тварин була меншою на 19,2 % порівняно з контрольною групою, через два тижні відставання у масі тіла збільшилося і склало 28,3 % (табл. 7.2).

Протягом третього та четвертого тижня експерименту активність тварин, які залишились живими, дедалі знижувалась. Тварини стали неактивними, зрідка поволі пересувалися по клітці лише під час годування, споживання корму та води було низьким. З'явилися ділянки облісіння на шкірі та поодинокі фурункули у частини тварин. Втрата маси тіла склала 35,1 % на кінець третього тижня та 38,9 % - четвертого тижня експерименту (див. табл. 7.2). На 17 добу (третій тиждень) та на 25 добу (четвертий тиждень) експерименту загинуло по одній тварині. Таким чином, наприкінці четвертого тижня експерименту із 20 тварин живими залишилось 17 (див. табл. 7.1).

*Таблиця 7.1*



**Динаміка загибелі тварин у ході експерименту та відсоток виживання тварин по завершенню експерименту**

Група тварин	n	Кількість тварин/тиждень						Вижило		Загинуло		Сумарна тривалість життя	
		1	2	3	4	5	6	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Контрольна	10	10	10	10	10	10	10	10	100	0	0	420/420	100
Порівняння	20	19	19	18	17	17	16	16	80	4	20	742/840	88,3
Антраль	20	20	20	20	20	20	20	20	100	0	0	840/840	100
Артишок	20	19	19	19	19	18	18	18	90	2	10	784/840	93,3
Біциклол	20	20	19	19	18	18	18	18	90	2	10	784/840	93,3
Глутаргін	20	20	20	20	20	20	20	20	100	0	0	840/840	100
Дарсіл	20	20	19	19	19	18	18	18	90	2	10	777/840	92,5
Ессенціале	20	20	20	20	20	20	20	20	100	0	0	840/840	100
Урсохол	20	19	19	19	19	19	19	19	95	1	5	798/840	95,0
Тіотриазолін	20	20	20	19	18	18	18	18	90	2	10	770/840	91,7
Галстена	20	20	19	19	18	17	17	17	85	3	15	770/840	91,7

При спостереженні за тваринами протягом п'ятого-шостого тижнів експерименту було зареєстровано значне погіршення зовнішнього вигляду тварин. У порівнянні зі здоровими щурами відставання у масі становило 40,6 %. Волосяний покрив був рідким, з поширеними ділянками облісіння, множинні фурункули. Тварини споживали вдвічі менше корму і води порівняно з тваринами групи контролю, окремі – зовсім не реагували на їжу. Частина тварин гуртувалася, інші – тримались поодинокі, слабо реагували на зовнішні подразники, зрідка пересувались по клітці. При цьому втрата маси тіла на кінець експерименту склала 42,0 % (див. табл. 7.2).

Протягом шостого тижня введення гепатотоксинів загинула ще 1 тварина. Загалом за шість тижнів проведення експерименту загинуло 4 щурів, що склало 20% (див. табл. 7.1).

*Таблиця 7.2*

**Динаміка маси тіла тварин у ході експерименту**

Група тварин	Поч атк	Маса тіла (г) у термін дослідження, $M \pm m$
--------------	---------	---

		Тиждень експерименту					
		1	2	3	4	5	6
Контроль, n=10	52,6±1, 7	69,4±3,2	87,5±4,1	108,4±5,1	127,8±5,5	145,4±6,8	163,4±9,4
Порівнянн я, n=16	53,8±1, 8	56,1±1,4* **	62,7±2,3** *	70,4±3,1** *	78,1±3,8** *	86,4±4,3* *	94,7±6,8** *
Антраль, n=20	52,6±1, 7	64,7±1,9# ##	79,4±2,7## #	102,5±5,3# ##	118,3±4,2# ##	137,2±6,9# ##	148,9±7,5# ##
Артишок, n=18	52,7±1, 4	61,7±1,1* ##	69,4±1,6** ##	75,7±2,9* *	86,6±4,1** *	107,2±5,7* **	118,7±5,4* **
Біциклол, n=18	54,1±2, 2	66,2±3,1# #	85,3±3,4## #	97,9±5,6## #	123,4±5,2# ##	142,8±7,1# ##	154,2±8,7# ##
Глутаргін, n=20	53,4±1, 6	64,1±1,3# ##	79,5±2,1## #	94,6±3,2## #	114,5±4,4# ##	130,4±5,2# ##	141,8±6,2# ##
Дарсил, n=18	54,2±1, 3	62,9±1,7# #	74,3±2,4** ##	89,3±2,8** ###	106,7±3,1* *	122,6±4,9* ###	132,6±5,9* ###
Ессенціале , n=20	52,8±0, 9	66,3±2,1# ##	84,8±1,8## #	98,4±2,6## #	119,8±3,2# ##	136,1±5,4# ##	146,4±7,2# ##
Урсохол, n=19	52,3±1, 4	63,8±2,7# #	83,2±3,4## #	98,2±4,3## #	117,2±5,3# ##	134,6±4,9# ##	145,1±7,6 #
Тіотриазолі н, n=18	55,2±2, 3	65,8±1,6# ##	84,4±2,6## #	104,7±3,4# ##	123,7±5,8# ##	141,3±5,2# ##	153,6±6,1# ##
Галстена, n=17	54,1±1, 6	60,6±2,4* #	68,3±1,8** *	76,9±4,7** *	88,3±6,5** *	109,6±7,4* #	121,3±7,9* #

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ); # – достовірна відмінність у порівнянні з нелікованою групою порівняння (# –  $p < 0,05$ , ## –  $p < 0,01$ , ### –  $p < 0,001$ ).

## 7.2. Результати клінічного спостереження за тваринами із хронічним токсичним гепатитом на тлі введення гепатопротекторів

Спостереження за зовнішнім виглядом, динамікою маси тіла та відсотком смертності тварин із ХТГ, яким у лікувальному режимі паралельно із

уведенням гепатотоксинів вводили засоби патогенетичної терапії, показало, що усі гепатопротектори більшою чи меншою мірою виявляють позитивний лікувальний ефект. Слід відмітити, що зовнішній вигляд тварин (активність, характеристика волосяного покриву), яким вводили препарати антраль, біциклол та есенціалє, практично не відрізнявся від інтактних тварин контрольної групи. Зовнішній вигляд тварин, яким вводили препарати тіотриазолін, дарсіл, глутаргін, артишоку екстракт та галстена був дещо гіршим, ніж у тварин контрольної групи, проте значно кращим, ніж у нелікованих тварин. Гірше споживали корм та воду тварини, яким вводили дарсіл, галстену та артишок, що знайшло своє відображення в динаміці маси тіла тварин даних груп, яка виявилась найнижчою на кінець експерименту. Так найбільшою через шість тижнів експерименту маса тіла була у тварин, яким з лікувальною метою вводили біциклол – відставання у масі порівняно з тваринами контрольної групи становило лише 5,6 % ( $p > 0,05$ ), далі за зменшенням маси тіла тварини розташувались наступним чином : тіотриазолін (6,0 %), антраль (8,9 %), есенціалє (10,4 %), урсохол (11,2 %), глутаргін (13,2 %), дарсіл (18,8 %), галстена (25,8 %), артишоку (27,4 %). Проте, незважаючи на зменшення наростання маси тіла тварин усіх піддослідних груп, яким вводили гепатопротектори, різниця була достовірною у порівнянні з нелікованими тваринами групи порівняння (див. табл. 7.2).

При аналізі такого важливого показника ефективності лікарського засобу, як загибель тварини в ході експерименту, було встановлено, що при застосуванні трьох гепатопротекторів, таких як антраль, глутаргін та есенціалє, не загинула жодна тварина. Тоді як найменший відсоток загибелі (5,0 %) та, відповідно, найбільший відсоток виживання експериментальних тварин (95,0 %) було зареєстровано при введенні препарату урсохол – загинула лише одна тварина на третій день експерименту. Однаковою виявилась сумарна тривалість життя (93,3 %) та відсоток загиблих тварин (10,0 %) при застосуванні препаратів біциклол та артишоку. Далі розташувались дарсіл та тіотриазолін – при їх застосуванні загинуло також по 2 тварини, проте сумарна

тривалість життя була дещо меншою і становила 92,5 % та 91,7 % відповідно. Найбільший відсоток загиблих тварин у ході лікування ХТГ спостерігався при застосуванні гомеопатичного препарату галстена, що становив 15,0 %. Сумарна тривалість життя експериментальних тварин даної групи склала 91,7 % (див. табл. 7.1).

Отже, представлені результати вказують на те, що кращою ефективністю, за даними візуальної оцінки зовнішнього стану, поведінки, споживання їжі та води, динаміки маси тіла та відсотком тварин, які вижили, володіють вітчизняні синтетичні гепатопротектори антраль та тіотриазолін, препарат на основі ЕФ – ессенціале, вітчизняний препарат із глутамінової кислоти та аргініну – глутаргін, біциклол - синтезований на основі шизадрину С, отриманого з Лимонника китайського, а також урсохол, що представляє собою УДХК, яка є синтетичним стереоізомером хеноксихолієвої кислоти. Меншою ефективністю володіють рослинні гепатопротектори артишок та дарсил, а також гомеопатичний препарат галстена.

### **7.3. Аналіз біохімічних показників сироватки крові нелікованих щурів із хронічним токсичним гепатитом**

Про ушкодження печінки тетрахлорметаном свідчило достовірне зниження у сироватці крові нелікованих тварин групи порівняння кількості загального білку на 15 %, який становив  $(51,64 \pm 0,4)$  г/л ( $p < 0,001$ ). Кількість альбумінів зменшувалась до  $(33,54 \pm 0,87)$  г/л ( $p < 0,001$ ), а глобулінів збільшувалась до  $(17,1 \pm 0,9)$  г/л ( $p < 0,001$ ). А/Г коефіцієнт достовірно зменшувався на 42,9 % ( $1,89 \pm 0,14$ ,  $p < 0,001$ ) (табл. 7.3). Це свідчило за порушення білоксинтезуючої функції печінки та розвиток гепатопривного синдрому.

*Таблиця 7.3*

**Характеристика білоксинтезуючої функції печінки при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів у залежності від застосованого гепатопротектора, (M±m)**

Групи	Показники		
	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	А/Г
	M±m	M±m	M±m
1. Контроль, n=10	60,71±1,26	46,63±1,26	3,31±0,25
2. Порівняння, n=16	51,64±0,40 <sup>***</sup>	33,54±0,87 <sup>***</sup>	1,89±0,14 <sup>***</sup>
3. Антраль, n=20	60,41±0,88 <sup>###</sup> p3,10<0,001	38,0±2,4 <sup>**</sup>	2,29±0,47 p3,10<0,001
4. Артишок, n=18	59,86±2,76 <sup>###</sup>	41,4±1,88 <sup>###</sup>	2,87±0,54 p4,11<0,05
5. Біциклол, n=18	60,99±0,48 <sup>###</sup> p5,10<0,001	39,56±1,10 <sup>###</sup>	2,22±0,29 <sup>**</sup> p5,10<0,001
6. Глутаргін, n=20	61,69±1,45 <sup>###</sup> p6,10<0,001	39,0±2,36 <sup>**#</sup>	2,08±0,26 <sup>*</sup> p6,10<0,001
7. Дарсил, n=18	57,62±2,12 <sup>#</sup>	41,3±2,41 <sup>###</sup>	2,74±0,31 <sup>#</sup> p7,11<0,05
8. Ессенціале, n=20	60,29±1,05 <sup>###</sup> p8,10<0,001	41,67±2,15 <sup>###</sup>	2,77±0,55 p8-p10<0,001
9. Урсохол, n=19	58,99±1,08 <sup>###</sup> p9,10<0,05	38,48±1,61 <sup>###</sup>	2,26±0,42 <sup>*</sup> p9,10<0,05
10. Тіотриазолін, n=18	55,26±1,08 <sup>###</sup> p10,11<0,001	34,95±0,47 <sup>***</sup>	1,88±0,16 <sup>***</sup> p10,11<0,001
11. Галстена, n=17	63,32±2,12 <sup>###</sup>	39,2±1,78 <sup>###</sup>	1,67±0,12 <sup>***</sup>

МЗС характеризувався збільшенням вмісту сироваткових IgA – (0,199±0,002) г/л (p<0,01), IgM (0,408±0,01) г/л (p<0,05), IgG (1,414±0,06) г/л (p<0,05) (табл. 7.4), а також тимолової проби – у 2,4 рази (1,24±0,16) од. (p<0,001) (табл. 7.5).

Істотно порушувався ліпідний обмін і біотрансформація гемоглобіну : кількість β-ліпопротеїнів у сироватці крові був збільшений на 113,2 %, що склало (42,15±1,14) у. од. (p<0,001) (див. табл. 7.5), загального білірубину на 150,2 % (7,06±0,58, p<0,001), прямого – на 143,1% (1,76±0,1, p<0,001) (табл. 7.6). Значне ушкодження паренхіми печінки характеризувалось підвищенням активності АЛТ у 4 рази (112,08±8,93; p<0,001), АСТ – у 12 разів

(354,54±24,03; p<0,001), ГГТП – у 2,1 раза (9,92±1,21; p<0,001) (табл. 7.7), ЛФ – у 1,54 раза (73,38±8,32; p<0,001) (див. табл. 7.6).

Таблиця 7.4

**Вміст сироваткових імуноглобулінів при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів у залежності від застосованого гепатопротектора, (M±m)**

Групи	Показники		
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
	M±m	M±m	M±m
1. Контроль, n=10	0,185±0,002	0,363±0,016	1,196±0,08
2. Порівняння, n=16	0,199±0,002 <sup>**</sup>	0,408±0,01 <sup>*</sup>	1,414±0,06 <sup>*</sup>
3. Антраль, n=20	0,190±0,003 <sup>#</sup>	0,370±0,01 <sup>#</sup>	1,026±0,006 <sup>###</sup>
4. Артишок, n=18	0,180±0,001 <sup>###</sup>	0,373±0,05	0,869±0,005 <sup>***###</sup>
5. Біциклол, n=18	0,185±0,005 <sup>#</sup>	0,379±0,01 <sup>#</sup>	1,099±0,009 <sup>###</sup>
6. Глутаргін, n=20	0,187±0,003 <sup>###</sup>	0,368±0,01 <sup>###</sup>	1,465±0,04 <sup>**</sup>
7. Дарсіл, n=18	0,195±0,002 <sup>*</sup>	0,378±0,01 <sup>#</sup>	1,234±0,07
8. Ессенціале, n=20	0,186±0,004 <sup>###</sup>	0,364±0,01 <sup>###</sup>	1,136±0,09 <sup>###</sup>
9. Урсохол, n=19	0,178±0,001 <sup>*###</sup>	0,375±0,01 <sup>#</sup>	1,043±0,05 <sup>###</sup>
10. Тіотриазолін, n=18	0,191±0,002 <sup>###</sup>	0,396±0,02	1,321±0,03
11. Галстена, n=17	0,182±0,001 <sup>###</sup>	0,391±0,03	0,861±0,02 <sup>***###</sup>

Таблиця 7.5

**Показники тимолової проби, МДА, ліпідного обміну та α-ФПН при ХТГ у статевонезрілих щурів у залежності від застосованого гепатопротектора, (M±m)**

Групи	Показники			
	Тимолова проба, од.	МДА, мкмоль/л	β-ліпопротеїни, у. од.	α-ФПН, Од/мл
1. Контроль, n=10	0,51±0,07	3,40±0,03	37,25±0,63	0,26±0,09
2. Порівняння, n=16	1,24±0,16 <sup>***</sup>	4,60±0,15 <sup>***</sup>	42,15±1,14 <sup>**</sup>	5,88±0,95 <sup>***</sup>
3. Антраль, n=20	0,61±0,05 <sup>###</sup> p3,8<0,05 p3,4<0,05	3,25±0,13 <sup>###</sup> p3,9<0,05 p3,7<0,05 p3,8<0,05	36,25±1,24 <sup>##</sup> p3,5<0,01 p3,7<0,05	0,63±0,19 <sup>###</sup>
4. Артишок, n=18	0,85±0,08 <sup>**#</sup>	3,44±0,17 <sup>###</sup>	40,01±1,06 <sup>*</sup> p3,4<0,05	0,32±0,13 <sup>###</sup>

5. Біциклол, n=18	0,59±0,05 <sub>###</sub> p5,8<0,01 p5,4<0,05	3,65±0,19 <sub>###</sub>	41,33±0,73 <sup>***</sup>	0,67±0,31 <sub>###</sub>
6. Глутаргін, n=20	0,83±0,10* <sub>#</sub>	3,57±0,26 <sub>##</sub>	39,25±1,10	0,30±0,11 <sub>###</sub>
7. Дарсіл, n=18	0,75±0,09 <sub>#</sub>	3,70±0,14 <sub>###</sub>	39,2±0,98	0,90±0,33 <sub>###</sub>
8. Ессенціале, n=20	0,87±0,08 <sup>**</sup>	3,75±0,14* <sub>###</sub>	38,11±0,60 <sub>#</sub>	0,62±0,19 <sub>###</sub>
9. Урсохол, n=19	0,79±0,08* <sub>#</sub>	3,85±0,19* <sub>##</sub>	38,20±0,82 <sub>#</sub>	0,27±0,09 <sub>###</sub>
10. Тіотриазолін, n=18	0,63±0,06 <sub>##</sub>	3,54±0,18 <sub>###</sub>	38,60±0,94 <sub>#</sub>	0,73±0,24 <sub>###</sub>
11. Галстена, n=17	0,85±0,13*	3,58±0,13 <sup>**</sup> <sub>###</sub>	41,20±1,24*	1,45±0,49* <sub>##</sub>

Таблиця 7.6

**Характеристика біохімічних показників синдрому холестазу у статевонезрілих щурів у залежності від застосованого гепатопротектора, (M±m)**

Групи	Показники		
	Загальний білірубін, мкмоль/л	Прямий білірубін, мкмоль/л	Лужна фосфатаза, У/л
1. Контроль, n=10	4,70±0,21	1,23±0,05	47,5±2,05
2. Порівняння, n=16	7,06±0,58 <sup>***</sup>	1,76±0,10 <sup>***</sup>	73,38±8,32 <sup>**</sup>
3. Антраль, n=20	5,52±0,32 <sup>#</sup> p3,11<0,05	1,43±0,10 <sup>#</sup>	61,63±3,92 <sup>**</sup>
4. Артишок, n=18	6,23±0,39 <sup>**</sup>	1,28±0,08 <sub>###</sub>	60,60±2,53 <sup>***</sup>
5. Біциклол, n=18	6,43±0,22 <sup>***</sup>	1,59±0,09 <sup>**</sup>	49,78±4,31 <sup>#</sup>
6. Глутаргін, n=20	6,22±0,37 <sup>**</sup>	1,54±0,12 <sup>*</sup>	65,25±3,48 <sup>***</sup> p5,6<0,01 p6,9<0,01
7. Дарсіл, n=18	6,08±0,42 <sup>**</sup>	1,48±0,12	67,10±4,71 <sup>***</sup> p5,7<0,05 p7,9<0,05
8. Ессенціале, n=20	5,64±0,22 <sup>**#</sup> p8,11<0,05	1,28±0,07 <sub>###</sub>	64,11±5,73 <sup>*</sup>
9. Урсохол, n=19	6,31±0,47 <sup>**</sup>	1,59±0,09 <sup>**</sup>	54,70±2,06 <sup>#</sup> p9,10<0,001
10. Тіотриазолін, n=18	6,10±0,38 <sup>**</sup>	1,59±0,19	76,30±5,85 <sup>***</sup> p5,10<0,05
11. Галстена, n=17	7,10±0,66 <sup>**</sup>	1,44±0,14	63,40±3,29 <sup>***</sup> p4,11<0,05 p5,11<0,05

Тетрахлорметан має прооксидантні властивості, сприяє накопиченню у сироватці крові продуктів ПОЛ. Так кількість МДА, як кінцевого продукту ліпопероксидації, була достовірно більшою на 35,3 % –  $(4,60 \pm 0,15)$  мкмоль/л проти  $(3,40 \pm 0,03)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 7.5).

Таблиця 7.7

**Характеристика біохімічних показників синдрому цитолізу у статевонезрілих щурів у залежності від застосованого гепатопротектора, (M±m)**

Групи	Показники		
	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	ГГТП, U/l
1. Контроль, n=10	28,05±2,13	29,25±2,85	4,75±0,26
2. Порівняння, n=16	112,08±8,93***	354,54±24,03***	9,92±1,21***
3. Антраль, n=20	65,63±7,52***### p3,10<0,01	268,38±25,23***#	7,88±0,83**
4. Артишок, n=18	53,8±3,87***### p4,6<0,001 p4,8<0,05 p4,9<0,001 p4,10<0,001 p4,11<0,001	300,0±18,90*** p4-p5<0,001	9,20±0,75*** p4,5<0,001 p4,6<0,001 p4,8<0,001
5. Біциклол, n=18	69,56±5,95***### p5,10<0,01	247,78±13,91***### p5-p8<0,01	5,11±0,58## p5,7<0,01 p5,9<0,05 p5,10<0,01 p5,11<0,05
6. Глутаргін, n=20	93,63±13,47***	254,63±20,24***### p6-p8-<0,05	7,13±0,37***#
7. Дарсіл, n=18	66,9±8,65***### p7,10<0,05	280,8±16,63***#	8,90±1,02***
8. Ессенціалс, n=20	87,56±6,86	308,22±12,59***	6,11±0,43## p8,9<0,05 p8,10<0,01 p8,11<0,05
9. Урсохол, n=19	83,5±6,86***#	273,5±14,08***###	7,90±0,69***



10. Тіотриазолін, n=18	93,5±6,13 <sup>***</sup>	263,4±14,53 <sup>***##</sup>	8,70±0,74 <sup>***</sup>
11. Галстена, n=17	98,6±24,45 <sup>**</sup>	303,2±23,49 <sup>***</sup>	8,20±0,76 <sup>***</sup>

#### 7.4. Аналіз біохімічних показників сироватки крові щурів із хронічним токсичним гепатитом, які отримували гепатопротектори

Досліди показали, що усі досліджувані препарати мають гепатопротекторну дію різного ступеня виразності. Вивчення інтенсивності ЦС при ХТГ показало, що найбільш виразне зниження активності АЛТ спостерігалось при застосуванні артишоку екстракт – (53,8±3,87) U/l проти (112,08±8,93) U/l у групі порівняння ( $p < 0,001$ ) > антраль – (65,63±7,52) U/l ( $p < 0,001$ ) > дарсіл – (66,9±8,65) U/l ( $p < 0,001$ ) > біциклол – (69,56±5,95) U/l ( $p < 0,001$ ) > урсохол – (83,5±6,86) U/l ( $p < 0,05$ ) > есенціале – (87,56±6,86) U/l ( $p < 0,05$ ) > тіотриазолін – (93,5±6,13) U/l ( $p > 0,05$ ) > глутаргін – (93,63±13,47) U/l ( $p > 0,05$ ) > галстена – (98,6±24,45) U/l ( $p > 0,05$ ). Встановлена вища ефективність рослинного гепатопротектору на основі екстракту артишоку у відношенні нормалізації АЛТ у порівнянні з таким у препаратів есенціале ( $p < 0,05$ ), глутаргін ( $p < 0,001$ ), галстена ( $p < 0,001$ ), тіотриазолін ( $p < 0,001$ ) та урсохол ( $p < 0,001$ ), а також більша ефективність антралю ( $p < 0,01$ ) та біциклолу ( $p < 0,01$ ) порівняно з тіотриазоліном (див. табл. 7.7)

Дещо інша тенденція спостерігалась щодо зниження активності АСТ, найбільш ефективними у цьому відношенні виявилися біциклол (247,78±13,91 U/l,  $p < 0,001$  проти групи порівняння), глутаргін (254,63±20,24 U/l,  $p < 0,005$ ), тіотриазолін (263,4±14,53 U/l,  $p < 0,01$ ), антраль (268,38±25,23 U/l,  $p < 0,05$ ), урсохол (273,5±14,08 U/l,  $p < 0,001$ ) та дарсіл (280,8±16,63 U/l,  $p < 0,05$ ), менш ефективними – артишоку екстракт (300,0±18,9 U/l,  $p > 0,05$ ), галстена (303,2±23,49 U/l,  $p > 0,05$ ) та есенціале (308,22±12,59 U/l,  $p > 0,05$ ). Проведення порівняльної ефективності препаратів виявило вищу ефективність біциклолу у нормалізації активності АСТ порівняно з таким у есенціале ( $p < 0,01$ ) та

артишоку ( $p < 0,001$ ), а також більшу ефективність глутаргіну, ніж есенціалє ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.7).

Достовірне зниження активності ГГТП при застосуванні гепатопротекторів у порівнянні з тваринами, які не отримували лікування, відбувалось лише при застосуванні біциклолу ( $5,11 \pm 0,58$  U/l,  $p < 0,01$  проти групи порівняння), есенціалє ( $6,11 \pm 0,43$  U/l,  $p < 0,01$ ) та глутаргіну ( $7,13 \pm 0,37$  U/l,  $p < 0,05$ ). Зниження ГГТП було менш виразним при застосуванні антралю ( $7,88 \pm 0,83$  U/l,  $p > 0,05$ ), урсохолу ( $7,9 \pm 0,69$  U/l,  $p > 0,05$ ), галстени ( $8,2 \pm 0,76$  U/l,  $p > 0,05$ ), тіотриазоліну ( $8,7 \pm 0,74$  U/l,  $p > 0,05$ ), дарсілу ( $8,9 \pm 1,02$  U/l,  $p > 0,05$ ) та артишоку ( $9,2 \pm 0,75$  U/l,  $p > 0,05$ ). Порівняльна ефективність гепатопротекторів щодо нормалізації ГГТП виявилася наступною : препарат біциклол є більш ефективним ніж урсохол ( $p < 0,05$ ), тіотриазолін ( $p < 0,01$ ), дарсіл ( $p < 0,01$ ), артишок ( $p < 0,001$ ) та галстена ( $p < 0,05$ ). Есенціалє за ефективністю переважає артишок ( $p < 0,001$ ) та галстену ( $p < 0,03$ ); глутаргін має вищу ефективність, ніж артишок ( $p < 0,001$ ). Слід відмітити, що в усіх експериментальних групах після завершення курсу лікування активність АЛТ та АСТ достовірно відрізнялась від норми, лише при застосуванні біциклолу наступала нормалізація рівня ГГТП, що достовірно не відрізнялася від контролю (див. табл. 7.7).

Для оцінки ефективності гепатопротекторів також оцінювали нормалізацію біохімічних показників, що характерні для ЦС, а саме рівень загального і прямого білірубіну та активність ЛФ. У нелікованих тварин із ХТГ рівень загального білірубіну підвищувався до ( $7,06 \pm 0,28$ ) мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), прямого – до ( $1,76 \pm 0,1$ ) мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), ЛФ – до ( $73,38 \pm 8,32$ ) U/l ( $p < 0,001$ ). Нормалізація рівня загального білірубіну у порівнянні з нелікованими тваринами наставала при введенні антралю ( $5,52 \pm 0,32$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ), есенціалє ( $5,64 \pm 0,22$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ), дарсілу ( $6,08 \pm 0,42$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), тіотриазоліну ( $6,10 \pm 0,38$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), глутаргіну ( $6,22 \pm 0,37$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), артишоку ( $6,23 \pm 0,39$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), урсохолу ( $6,31 \pm 0,47$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ) та біциклолу ( $6,43 \pm 0,22$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ). Слід відмітити, що антраль

та есенціалє є більш ефективними щодо нормалізації рівня загального білірубіну, ніж галстена ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.6).

Подібні результати були отримані і у відношенні нормалізації рівня прямого білірубіну – найкращі результати проти групи порівняння були отримані при введенні есенціалє ( $1,28 \pm 0,07$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), антраль ( $1,43 \pm 0,1$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ) та артишок ( $1,28 \pm 0,08$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ). Менш ефективними виявились дарсіл ( $1,48 \pm 0,12$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), тіотриазолін ( $1,59 \pm 0,19$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), глутаргін ( $1,54 \pm 0,12$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ), урсохол ( $1,59 \pm 0,09$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ) та біциклол ( $1,59 \pm 0,09$  мкмоль/л,  $p > 0,05$ ) (див. табл. 7.6).

Максимальне зниження активності ЛФ у порівнянні з нелікованою групою спостерігалось при введенні біциклолу ( $49,78 \pm 4,3$  U/l,  $p < 0,05$ ) та урсохолу ( $54,70 \pm 2,06$  U/l,  $p < 0,05$ ). Менш виразна нормалізація даного показника була зареєстрована при введенні антралю ( $61,63 \pm 3,92$  U/l,  $p > 0,05$ ), есенціалє ( $64,11 \pm 5,73$  U/l,  $p > 0,05$ ), дарсілу ( $67,1 \pm 4,71$  U/l,  $p > 0,05$ ), глутаргіну ( $65,25 \pm 3,48$  U/l,  $p > 0,05$ ), артишоку ( $60,6 \pm 2,53$  U/l,  $p > 0,05$ ), галстени ( $63,4 \pm 3,29$  U/l,  $p > 0,05$ ). У порівняльному аспекті гепатопротектор біциклол та урсохол є більш ефективними щодо зниження активності ЛФ, ніж тіотриазолін ( $p < 0,05$ ), дарсіл ( $p < 0,05$ ), глутаргін ( $p < 0,01$ ) та галстена ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.6).

Вивчення показників білкового обміну показало позитивний вплив усіх досліджуваних гепатопротекторів на нормалізацію рівня загального білку. Цей показник у сироватці крові всіх експериментальних тварин, яким проводилось лікування ХТГ, не відрізнявся від контрольної групи проте був достовірно меншим ( $p < 0,01-0,001$ ), ніж у тварин групи порівняння. При дослідженні впливу гепатопротекторів на вміст загального білку у плазмі крові встановлено, що ефективність галстени ( $p < 0,001$ ), глутаргіну ( $p < 0,001$ ), біциклолу ( $p < 0,001$ ), есенціалє ( $p < 0,001$ ) антралю ( $p < 0,001$ ) та урсохолу ( $p < 0,05$ ) достовірно перевищувала таку у тіотриазоліну (див. табл. 7.3).

Схожа тенденція спостерігалась і при нормалізації вмісту альбуміну. Усі препарати більшою чи меншою мірою підвищували його у сироватці крові

експериментальних тварин, проте його кількість достовірно відрізнялася від контролю. Достовірне зростання вмісту альбуміну у порівнянні з тваринами із ХТГ без лікування відбувалося при введенні есенціалє ( $41,67 \pm 2,15$  г/л проти  $33,54 \pm 0,87$  г/л,  $p < 0,001$ ), артишоку ( $41,4 \pm 1,88$  г/л,  $p < 0,001$ ), дарсілу ( $41,3 \pm 2,41$  г/л,  $p < 0,001$ ), біциклолу ( $39,56 \pm 1,10$  г/л,  $p < 0,001$ ), галстени ( $39,2 \pm 1,78$  г/л,  $p < 0,01$ ), глутаргіну ( $39,0 \pm 2,36$  г/л,  $p < 0,05$ ) та урсохолу ( $38,48 \pm 1,61$  г/л,  $p < 0,05$ ). При порівнянні ефективності препаратів із різних груп достовірної різниці не спостерігалось. При застосуванні дарсілу, артишоку, есенціалє та антралю відбувалась нормалізація А/Г коефіцієнту, проте достовірна різниця мала місце лише при застосуванні рослинного гепатопротектору дарсіл – ( $2,74 \pm 0,31$ ) г/л проти ( $1,89 \pm 0,14$ ) г/л у групі порівняння ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.3).

Проведене експериментальне дослідження показало, що ліпідний обмін значно покращується при використанні антралю, есенціалє, урсохолу та тіотриазоліну, ніж при застосуванні дарсілу, глутаргіну, артишоку, галстени та біциклолу. Введення антралю призвело до достовірного зниження рівня сироваткових  $\beta$ -ліпопротеїнів у порівнянні з тваринами із ХТГ, які не отримували лікування – ( $36,25 \pm 1,24$ ) проти ( $42,15 \pm 1,14$ ) у. од. ( $p < 0,05$ ), а також із щурами, яким вводили дарсіл – ( $39,2 \pm 0,98$  у. од.,  $p < 0,05$ ), біциклол – ( $41,33 \pm 0,73$ ) у. од. ( $p < 0,01$ ) та артишок – ( $40,0 \pm 1,06$ ) у. од. ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що такі гепатопротектори, як біциклол, галстена та артишоку екстракт практично не впливали на ліпідний обмін, оскільки рівень  $\beta$ -ліпопротеїнів при їх застосуванні достовірно відрізнявся від тварин контрольної групи (див. табл. 7.5).

Усі гепатопротектори, що були використані для лікування експериментального ХТГ володіють антиоксидантними властивостями різного ступеня виразності. Так достовірне зниження вмісту МДА наставало при застосуванні усіх препаратів, порівняно з групою тварин, які не отримували лікування. Найбільш виразною антиоксидантною дією, за результатами проведених експериментальних досліджень, володіє антраль – вміст МДА після введення його протягом шести тижнів не відрізнявся від аналогічного

показника у тварин групи контролю і становив ( $3,25 \pm 0,33$ ) проти ( $4,60 \pm 0,15$ ) мкмоль/л у тварин групи порівняння ( $p < 0,001$ ). Далі за зменшенням антиоксидантної активності препарати були розташовані наступним чином : артишоку екстракт ( $3,44 \pm 0,17$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), тіотриазолін ( $3,54 \pm 0,18$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), глутаргін ( $3,57 \pm 0,26$  мкмоль/л,  $p < 0,002$ ), галстена ( $3,58 \pm 0,13$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), біциклол ( $3,65 \pm 0,19$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), дарсіл ( $3,70 \pm 0,14$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ), есенціалє ( $3,75 \pm 0,34$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ). Найменша здатність пригнічувати процеси ПОЛ була виявлена у гепатопротектора урсохол ( $3,85 \pm 0,19$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ). Слід відмітити, що при порівнянні антиоксидантної дії ряду гепатопротекторів на моделі ХТГ у статевонезрілих щурів, було встановлено, що найбільш потужною активністю володіє антраль. Дія даного гепатопротектору за здатністю пригнічувати процеси ПОЛ достовірно перевищує антиоксидантний ефект у препаратів дарсіл ( $p < 0,05$ ), есенціалє ( $p < 0,05$ ) та урсохол ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.5).

Вплив гепатопротекторів, що досліджувалися, на показники МЗС оцінювали за нормалізацією рівня імуноглобулінів та тимолової проби у сироватці крові піддослідних тварин. Так рівень сироваткових імуноглобулінів у піддослідних щурів із ХТГ, які не отримували лікування, достовірно підвищувався, що доводило наявність даного біохімічного синдрому (див. табл. 7.4). Введення експериментальним тваринам гепатопротекторів з лікувальною метою призвело до їх нормалізації у більшості з них. Так рівень IgA достовірно був зменшений у тварин, які отримували урсохол ( $0,178 \pm 0,001$  проти  $0,199 \pm 0,002$  г/л у нелікованих тварин групи порівняння,  $p < 0,001$ ), артишок ( $0,180 \pm 0,001$  г/л,  $p < 0,001$ ), галстену ( $0,182 \pm 0,001$  г/л,  $p < 0,001$ ), есенціалє ( $0,186 \pm 0,004$  г/л,  $p < 0,01$ ), глутаргін ( $0,187 \pm 0,003$  г/л,  $p < 0,01$ ), тіотриазолін ( $0,191 \pm 0,002$  г/л,  $p < 0,01$ ), біциклол ( $0,185 \pm 0,005$  г/л,  $p < 0,05$ ) та антраль ( $0,190 \pm 0,003$  г/л,  $p < 0,05$ ), що свідчило про зменшення запального процесу у печінці. Рівень IgM знижувався у меншій кількості тварин, достовірної різниці це зазнало при введенні есенціалє ( $0,364 \pm 0,010$  проти  $0,408 \pm 0,010$  г/л у нелікованих тварин,  $p < 0,01$ ), глутаргіну ( $0,368 \pm 0,010$  г/л,  $p < 0,01$ ), антралю

( $0,370 \pm 0,010$  г/л,  $p < 0,05$ ), урсохолу ( $0,375 \pm 0,010$  г/л,  $p < 0,05$ ), дарсілу ( $0,378 \pm 0,010$  г/л,  $p < 0,05$ ), біциклолу ( $0,379 \pm 0,010$  г/л,  $p < 0,05$ ). Тоді як достовірне зниження рівня IgG у сироватці крові наставало у всіх піддослідних групах, за винятком тих тварин, які отримували глутаргін та тіотриазолін. Так при введенні тваринам із ХТГ гомеопатичного препарату галстена рівень IgG становив ( $0,861 \pm 0,020$ ) проти ( $1,414 \pm 0,06$ ) г/л у тварин групи порівняння ( $p < 0,001$ ), при застосуванні рослинного препарату артишоку екстракт – ( $0,869 \pm 0,005$ ) г/л ( $p < 0,001$ ), антраль – ( $1,026 \pm 0,006$ ) г/л ( $p < 0,001$ ), урсохол – ( $1,043 \pm 0,050$ ) г/л ( $p < 0,001$ ), біциклол – ( $1,099 \pm 0,009$ ) г/л ( $p < 0,001$ ), есенціалє – ( $1,136 \pm 0,090$ ) г/л ( $p < 0,01$ ), дарсіл – ( $1,234 \pm 0,070$ ) г/л ( $p = 0,063$ ) (див. табл. 7.4).

Величина тимолової проби у нелікованих тварин із експериментальним ХТГ, як вказувалось раніше, достовірно підвищувалась порівняно із інтактними тваринами ( $1,24 \pm 0,16$  проти  $0,51 \pm 0,07$  од.,  $p < 0,001$ ). Достовірна нормалізація даного показника наступала у чотирьох групах : при застосуванні біциклолу ( $0,59 \pm 0,05$  од.,  $p < 0,001$  з групою порівняння), антралю ( $0,61 \pm 0,05$  од.,  $p < 0,001$ ), тіотриазоліну ( $0,63 \pm 0,06$  од.,  $p < 0,01$ ) та дарсілу ( $0,75 \pm 0,09$  од.,  $p < 0,01$ ). Введення урсохолу, есенціалє, глутаргіну, артишоку, та галстени призводило до зниження тимолової проби у меншому ступені. Аналіз нормалізації тимолової проби у порівняльному аспекті показав, що синтетичні гепатопротектори біциклол та антраль є більш ефективними, ніж есенціалє (відповідно  $p < 0,01$  та  $p < 0,05$ ) та артишоку екстракт ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 7.5).

У сироватці крові методом ІФА провели кількісне визначення рівня  $\alpha$ -ФПН, як неінвазивного маркера фіброзу та цирозу печінки. Встановлено, що через шість тижнів від початку введення гепатотоксинів рівень  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові нелікованих щурів із ХТГ у 22 рази перевищував аналогічний показник в ідентичних за віком інтактних тварин контрольної групи, що склало відповідно ( $5,88 \pm 0,95$ ) проти ( $0,26 \pm 0,09$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ). В усіх групах піддослідних тварин із ХТГ, які отримували у якості патогенетичної терапії один із гепатопротекторів, що досліджували, рівень  $\alpha$ -ФПН був значно нижчим, і за величиною наближувався до такого у контролі, за винятком піддослідної

групи, якій вводили гомеопатичний препарат галстена, оскільки він достовірно ( $p < 0,05$ ) у 5,4 раза перевищував аналогічний у інтактних тварин. Так за величиною  $\alpha$ -ФПН піддослідні групи тварин, які отримували лікування, були розташовані наступним чином : при застосуванні урсохолу даний показник був найменшим і становив ( $0,27 \pm 0,09$ ) Од/мл ( $p < 0,001$  у порівнянні з нелікованими тваринами), глутаргін – ( $0,30 \pm 0,11$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), артишоку екстракт – ( $0,32 \pm 0,13$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), есенціалє – ( $0,62 \pm 0,19$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), антраль – ( $0,63 \pm 0,19$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), біциклол – ( $0,67 \pm 0,31$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), тіотриазолін – ( $0,73 \pm 0,24$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), дарсіл – ( $0,90 \pm 0,33$ ) Од/мл ( $p < 0,001$ ), галстена – ( $1,45 \pm 0,49$ ) Од/мл ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 7.5).

Отже, визначення рівня  $\alpha$ -ФПН методом ІФА аналізу, який є швидким та високочутливим тестом для скринінгової діагностики фіброзних змін у печінці, показало, що проведена патогенетична терапія ХТГ у статевонезрілих щурів з використанням ряду гепатопротекторів є ефективною у відношенні зменшення фіброзних змін у печінці при даній патології.

Результати експериментів свідчать про те, що при ХТГ достовірна ефективність гепатопротекторів у відношенні до різних показників білкового, ліпідного обміну, ПОЛ, синдрому цитолізу та холестазу була неоднозначною та розподілялась наступним чином.

Препарат антраль суттєво підвищував вміст загального білку крові ( $p < 0,0001$ ), знижує рівень загального та прямого білірубіну ( $p < 0,05$ ), покращує ліпідний обмін, шляхом зниження рівня  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $p < 0,01$ ), достовірно знижував активність трансаміназ, тимолову пробу ( $p < 0,001$ ), рівень сироваткових IgA ( $p < 0,05$ ), IgM ( $p < 0,05$ ) та IgG ( $p < 0,001$ ). Це засвідчує хороші лікувальні властивості даного вітчизняного синтетичного гепатопротектору у відношенні зменшення виразності таких біохімічних синдромів, як холестатичний, цитолітичний та мезенхімального запалення.

Біциклол нормалізував кількість загального білку ( $p < 0,001$ ) за рахунок підвищення фракції альбумінів ( $p < 0,001$ ), значно знижував активність основних індикаторів синдромів цитолізу та холестазу, а саме АЛТ ( $p < 0,001$ ), АСТ

( $p < 0,001$ ), ЛФ ( $p < 0,05$ ), ГГТП ( $p < 0,01$ ). Препарат зменшував виразність запального процесу у печінці, свідченням чого є зменшення показника тимолової проби ( $p < 0,001$ ), IgA ( $p < 0,05$ ), IgM ( $p < 0,05$ ) та IgG ( $p < 0,001$ ).

Урсохол також підвищував рівень загального білку ( $p < 0,001$ ) та сироваткових альбумінів ( $p < 0,05$ ), знижував вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $p < 0,05$ ), активність ЛФ ( $p < 0,05$ ), АЛТ ( $p < 0,05$ ), АСТ ( $p < 0,01$ ), тимолову пробу ( $p < 0,05$ ) та рівень усіх імуноглобулінів, що досліджувалися (IgA,  $p < 0,001$ ; IgM,  $p < 0,05$ ; IgG,  $p < 0,001$ ), що свідчить про хороші протизапальні, антихолестатичні, антицитолітичні ефекти даного препарату, а також про відновлення білоксинтезуючої функції печінки.

Вітчизняний гепатопротектор тіотриазолін достовірно підвищував лише кількість загального білку ( $p < 0,005$ ), при цьому кількість альбумінів та глобулінів не відрізнялася від групи порівняння. Препарат знижував вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $p < 0,05$ ), активність АСТ ( $p < 0,01$ ), тимолову пробу ( $p < 0,01$ ) та IgA ( $p < 0,01$ ).

Достовірне підвищення загального білку ( $p < 0,001$ ) та альбумінів ( $p < 0,001$ ) відбувалося при застосуванні есенціале. Препарат знижував рівень сироваткових  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $p < 0,05$ ), загального ( $p < 0,05$ ) і прямого ( $p < 0,001$ ) білірубину у сироватці крові. Гепатопротекторна дія препарату чітко проявлялося на зниженні ним активності АЛТ ( $p < 0,05$ ), ГГТП ( $p < 0,01$ ). Препарат володів хорошою протизапальною дією, оскільки зменшує рівень сироваткових IgA ( $p < 0,01$ ), IgM ( $p < 0,01$ ) та IgG ( $p < 0,01$ ).

Препарат глутаргін виявляв позитивний вплив на білковий обмін та показники синдрому цитолізу. Так при застосуванні даного препарату підвищувався вміст загального білку ( $p < 0,001$ ) та альбумінів ( $p < 0,01$ ), знижувалися біохімічні показники мезенхімального запалення (тимолова проба,  $p < 0,05$ ; IgA,  $p < 0,01$ ; IgM,  $p < 0,01$ ), частково нормалізувалися маркери цитолітичного (АСТ,  $p < 0,01$ ) та холестатичного (ГГТП,  $p < 0,05$ ) синдромів. Однак такі показники, як рівень загального та прямого білірубину, активність



ЛФ та вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів, не зазнали суттєвого зниження у порівнянні з тваринами, які не отримували лікування.

Рослинний препарат із розторопші плямистої дарсіл призводив не лише до достовірного підвищення рівня загального білку й альбуміну, а і до нормалізації А/Г коефіцієнту ( $p < 0,05$ ). Дарсіл достовірно знижував активність трансаміназ та величину тимолової проби ( $p < 0,05$ ). Проте препарат не виявляв значної антихолестатичної та протизапальної дії.

Інший рослинний препарат – артишоку екстракт мав хорошу ефективність у відношенні нормалізації рівня загального білку ( $p < 0,001$ ), альбумінів ( $p < 0,001$ ), а також IgA ( $p < 0,001$ ) та IgG ( $p < 0,001$ ) у крові, активності АЛТ ( $p < 0,01$ ) та тимолової проби ( $p < 0,05$ ).

Застосування гомеопатичного препарату галстена при експериментальному ХТГ показало неоднозначний вплив на білковий обмін, а саме достовірне максимальне підвищення рівня загального білку крові ( $p < 0,001$ ), як за рахунок альбумінів ( $p < 0,01$ ), так і глобулінів ( $p < 0,001$ ). Це відбилось на такому показнику, як А/Г коефіцієнт, який у даної групи тварин не відрізнявся від групи порівняння ( $p > 0,05$ ). Гомеопатичний препарат галстена, аналогічно рослинному гепатопротектору артишоку екстракт, знижував рівень IgA ( $p < 0,001$ ) та IgG ( $p < 0,001$ ), тобто зменшував виразність запального процесу у печінці, проте не чинив позитивного впливу на ліпідний обмін та показники, які характеризують синдроми цитолізу та холестазу.

Найбільш виразним протизапальним ефектом, за даними біохімічних досліджень, щодо зниження рівня сироваткових імуноглобулінів, володіли такі гепатопротектори, як урсохол, есенціалє, біцикллол та антраль. Меншу здатність пригнічувати мезенхімальне запалення у печінці мали артишоку екстракт, глутаргін та галстена. Найменший лікувальний ефект, стосовно зменшення виразності даного синдрому, виявили такі препарати, як тіотриазолін та дарсіл.

Усі гепатопротектори, що досліджувалися, достовірно у порівнянні з нелікованими тваринами, пригнічували процеси ПОЛ, про що свідчило

зниження вмісту МДА у сироватці крові піддослідних тварин. Проте найбільш виразною антиоксидантною дією володів антраль, достовірно перевищуючи антиоксидантні ефекти дарсілу ( $p < 0,05$ ), есенціалє ( $p < 0,05$ ) та урсохолу ( $p < 0,05$ ).

### Резюме

Отже, патогенетична терапія хронічних гепатитів, що передбачає застосування гепатопротекторів, має бути спрямована на ліквідацію того чи іншого домінуючого клініко-біохімічного синдрому. Виходячи з результатів проведених біохімічних досліджень при виборі гепатопротектора, необхідно враховувати у кожному конкретному випадку індивідуальні особливості перебігу захворювання та основні біохімічні показники, на які діють ті чи інші препарати.

Таким чином, при переважанні у клінічному перебігу ХВГ синдрому холестазу препаратами вибору можуть бути антраль, біциклол, урсохол, есенціалє та дарсіл. При домінуванні процесів цитолізу слід призначати ті препарати, які володіють потужними мембраностабілізуючими властивостями, зокрема антраль, біциклол, урсохол та есенціалє. При виразному запаленні застосування антралю, біциклолу, урсохолу, есенціалє, глутаргіну, артишоку та галстени допоможе у патогенетичній терапії ХВГ у дітей. При порушенні білоксинтезуючої функції печінки найбільш ефективним буде призначення рослинного гепатопротектору дарсіл, а також таких гепатопротекторів, як артишок, галстена, есенціалє та біциклол. Покращують ліпідний обмін синтетичні гепатопротектори, зокрема антраль, тіотриазолін, а також препарати на основі жовчних кислот – урсохол та ЕФ – есенціалє. Найбільш потужними антиоксидантними властивостями володіють антраль та біциклол.

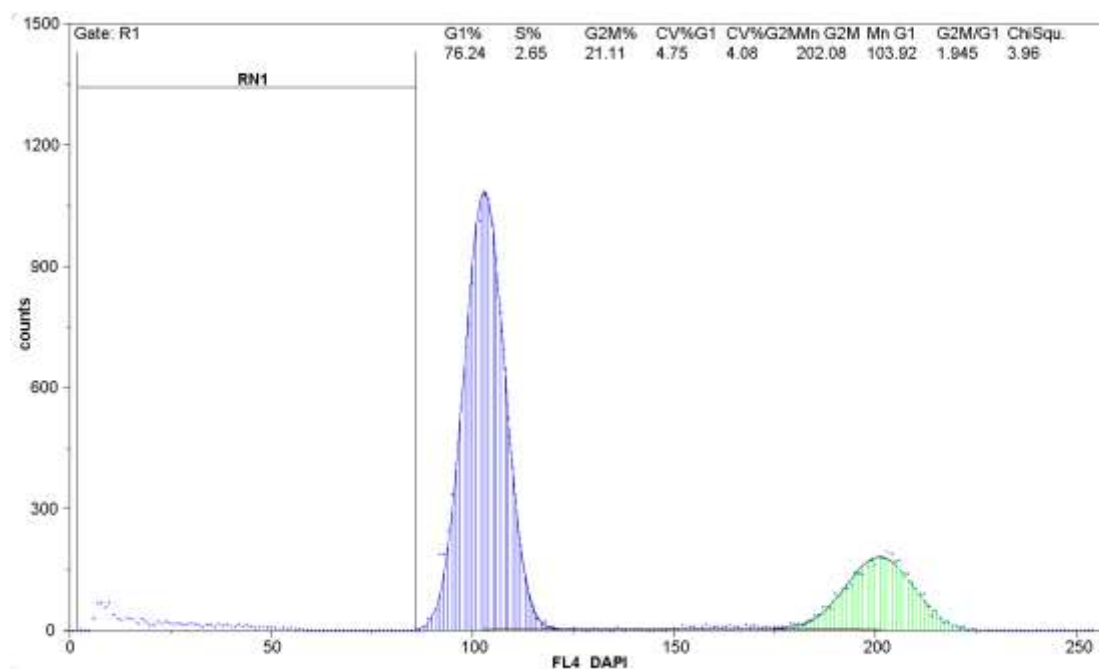
Основні дані розділу дисертації висвітлено у працях [118, 180, 181, 185, 188].

**РОЗДІЛ 8**  
**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ДНК (КЛІТИННИЙ ЦИКЛ,  
 ПЛОЇДНІСТЬ, ФРАГМЕНТАЦІЯ) В ЯДРАХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ  
 СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ  
 ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЙОГО  
 ПАТОГЕНЕТИЧНОМУ ЛІКУВАННІ**

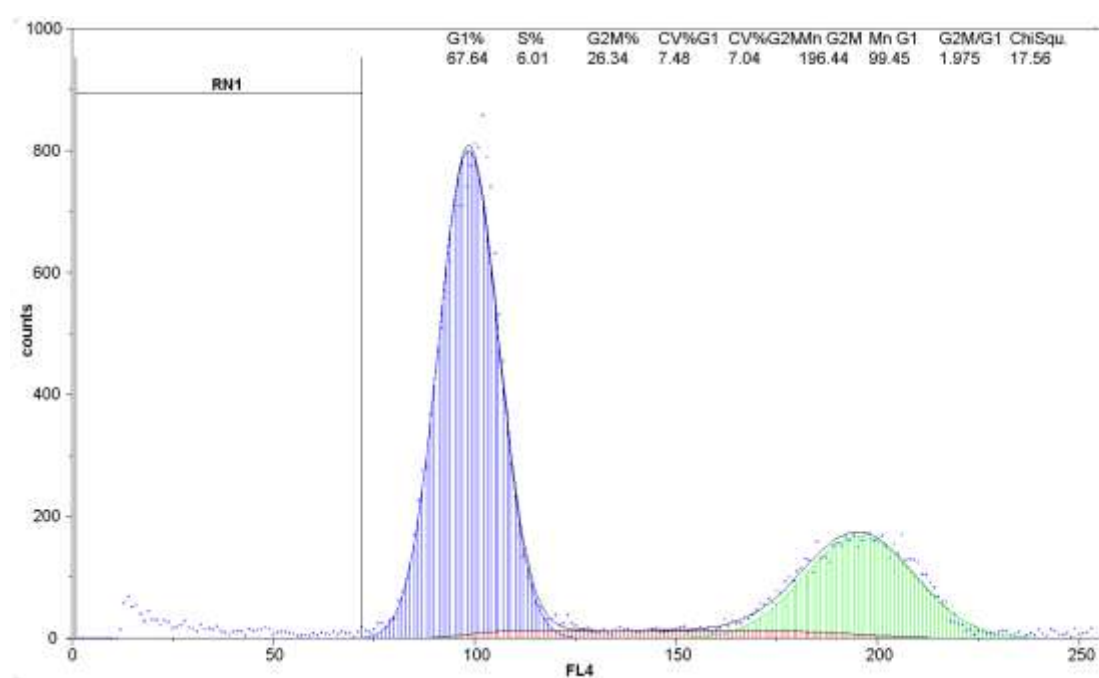
**8.1. Результати дослідження фаз клітинного циклу та плоідності набору ДНК в ядрах клітин печінки нелікованих статевонезрілих щурів із хронічним токсичним гепатитом**

При ушкодженні печінки статевонезрілих щурів  $CCl_4$ , яким вводили протягом шести місяців, за допомогою МПЦ встановлено, що кількість ядер клітин, які перебувають у фазі спокою та пресинтетичній фазі КЦ ( $G_0$ - $G_1$  інтервал), була зменшена (рис. 8.1). Даний показник становив  $71,08 \pm 3,65$  проти  $76,48 \pm 2,53$  % у тварин групи контролю ( $p < 0,001$ ) (табл. 8.1), що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які є найбільш чутливими до дії гепатотоксинів, а також мобілізації резервів ( $G_0$  фаза) для забезпечення регенерації. Паралельно зареєстровано, що відсоток ядер, які перебували у фазі синтезу ДНК (S-фазі), був достовірно більшим і становив  $3,64 \pm 1,54$  проти  $2,30 \pm 0,73$  % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 8.1).

Спостерігалась тенденція до збільшення відсотку ядер у премітотичній (постсинтетичній) та мітотичній фазах ( $G_2M$ ). Даний показник становив  $25,27 \pm 4,04$  % проти  $21,22 \pm 3,09$  % ( $p = 0,0641$ ). Достовірне зростання індексу проліферації (PI – сума показників фаз S та  $G_2M$ ) у печінці тварин, які не отримували лікування, до  $28,92 \pm 3,65$ % проти  $23,52 \pm 2,53$ % ( $p < 0,01$ ) у інтактних тварин контрольної групи свідчило про розвиток репаративної регенерації клітин печінки у відповідь на альтерацію, яка спричинена дією гепатотоксинів (див. табл. 8.1).



Інтактна тварина контрольної групи



Нелікована тварина з ХТГ групи порівняння

Рис. 8.1. Фази клітинного циклу печінкових клітин статевонезрілих щурів. Побудова кривої (тут і далі) : синій пік – інтервал  $G_0/G_1$  (%); червоний пік – фаза S (%); зелений пік – інтервал  $G_2/M$  (%); інтервал RN1 – субдиплоїдна ділянка, яка відображає фрагментацію ДНК.

Таблиця 8.1.

**Стадії клітинного циклу ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному ХТГ та його лікуванні гепатопротекторами, М±σ**

Група	Показники				
	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> (%)	S (%)	G <sub>2</sub> M (%)	PI (%)	Sub-G <sub>1</sub> (%)
1. Контроль, n=10	76,48±2,53	2,30±0,73	21,22±3,09	23,52±2,53	2,57±0,55
2. Порівняння, n=16	71,08±3,65 <sup>**</sup>	3,64±1,54 <sup>*</sup>	25,27±4,04 <sup>(*)</sup>	28,92±3,65 <sup>**</sup>	5,32±1,66 <sup>***</sup>
3. Антраль, n=20	85,82±2,06 <sup>**</sup> ## p3,4=0,02 p3,7=0,04	2,69±0,29 p3,5=0,0027 <sup>##</sup>	11,50±1,88 <sup>**</sup> ## p3,4=0,02	14,19±2,06 <sup>**</sup> ## p3,4=0,02 p3,7=0,04	5,24±0,18 <sup>**</sup> p3,4=0,02 p3,6=0,011 p3,11=0,01
4. Артишок, n=18	73,14±3,50 p4,5=0,053 p4,6=0,03 p4,7=0,02 p4,8=0,03 p4,9=0,03 p4,10=0,02 p4,11=0,03	2,21±0,98 p4,5=0,0167	24,64±2,56 p4,5=0,02 p4,6=0,03 p4,7=0,02 p4,8=0,03 p4,9=0,03 p4,10=0,02 p4,11=0,03	26,86±3,50 p4,5=0,053 p4,6=0,03 p4,7=0,02 p4,8=0,03 p4,9=0,03 p4,10=0,02 p4,11=0,03	2,95±0,37 <sup>#</sup> p4,6=0,03 p4,7=0,02 p4,10=0,02
5. Біцикллол, n=18	83,13±3,87 <sup>**</sup> # p5,10=0,02	4,13±0,38 <sup>**</sup> p5,6=0,008 p5,7=0,06 p5,9=0,005 p5,11=0,008	12,74±3,55 <sup>**</sup> ## p5,7=0,03 p5,10=0,03	16,87±3,86 <sup>**</sup> # p5,10=0,02	4,48±1,75 <sup>**</sup> p5,6=0,008
6. Глутаргін, n=20	85,42±1,31 <sup>**</sup> ## p6,7=0,09	2,46±0,95	12,11±0,43 <sup>**</sup> ## p6,7=0,01 p6,10=0,01	14,58±1,32 <sup>**</sup> ## p6,7=0,09	6,96±0,60 <sup>**</sup> p6,7=0,01 p6,8=0,01 p6,9=0,05 p6,10=0,01 p6,11=0,02
7. Дарсіл, n=18	82,56±2,78 <sup>**</sup> ## p7,10=0,03	3,14±1,06	14,29±2,26 <sup>**</sup> ## p7,10=0,004	17,44±2,78 <sup>**</sup> ## p7,10=0,03	4,81±0,86 <sup>**</sup> p7,11=0,01
8. Ессенціалє, n=20	83,24±3,45 <sup>**</sup> # p8,10=0,07	3,32±1,33	13,44±3,99 <sup>*</sup> # p8,10=0,02	16,76±3,45 <sup>*</sup> # p8,10=0,07	4,17±1,28 <sup>*</sup>
9. Урсохол, n=19	83,68±3,97 <sup>**</sup> ##	2,62±0,16	13,70±4,02 <sup>**</sup> ##	16,32±3,97 <sup>**</sup> ##	4,49±1,60 <sup>*</sup>
10. Тіотриазолін	87,10±2,45 <sup>**</sup>	3,33±0,98 <sup>*</sup>	9,57±1,68 <sup>**</sup> #	12,90±2,45 <sup>**</sup>	5,14±0,39 <sup>**</sup>

, n=18	##	p10,11=0,06	#	##	p10,11=0,01
11. Галстена, n=17	83,38±3,65 <sup>**</sup> ##	2,02±0,78	14,61±4,25 <sup>*#</sup> #	16,62±3,66 <sup>**</sup> ##	3,44±0,37 <sup>*##</sup>

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ); # – достовірна відмінність у порівнянні з нелікованою групою порівняння (# –  $p < 0,05$ , ## –  $p < 0,01$ , ### –  $p < 0,001$ ).

Установлений достовірно більший відсоток ядер печінкових клітин у S-фазі у 1,5 раза при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів у порівнянні з ідентичними за віком тваринами контрольної групи доводить посилення синтезу ДНК і виникає, на наш погляд, як компенсаторно-приспосувальна реакція, спрямована на відновлення маси ушкодженого органа.

Уведення гепатотоксинів статевонезрілим щурам спричиняє ушкодження ядер клітин паренхіми печінки, свідченням якого є значне зростання фрагментації ДНК ядер клітин печінки, як основного показника патогенно індукованого апоптозу, тобто розвиток необерненого ушкодження клітин. У тварин групи порівняння на гістограмах спостерігалось суттєве, майже у 2 рази, збільшення інтервалу  $RN_1$  у порівнянні з тваринами контрольної групи ( $5,32 \pm 1,66$  % проти  $2,57 \pm 0,55$  %,  $p < 0,001$ ) (див. табл. 8.1).

Аналізуючи плоїдність ядер клітин печінки в експерименті за допомогою МПЦ доведено, що склад популяції клітин, виділених із нормальної і патологічно зміненої печінки, суттєво відрізняється за кількістю наборів ДНК. Так, у тварин групи порівняння відсоток диплоїдних клітин із набором хромосом  $2c$  є меншим на 8,7 % у порівнянні з контрольної групою. Їхня кількість становила  $69,93 \pm 3,71$  проти  $76,60 \pm 5,72$  % ( $p < 0,05$ ) (табл. 8.2). Це свідчить про ушкодження значної кількості  $2c$ -гепатоцитів, оскільки вони є більш чутливими до дії патогенних чинників, а також підтверджує отримані нами дані щодо меншої кількості ядер, які перебувають в інтервалі  $G_0$ - $G_1$  та переходять у наступні фази КЦ, що готують клітину до поділу для реалізації репаративної регенерації ушкодженої тканини печінки.

Між диплоїдним та тетраплоїдним набором ДНК встановлено обернений кореляційний зв'язок ( $r = -0,93$ ,  $p < 0,001$ ). Так менша кількість диплоїдних ядер у нелікованих тварин із ХТГ поєднувалась із більшим відсотком тетраплоїдних ( $21,52 \pm 2,69$  проти  $17,91 \pm 4,91$ ,  $p > 0,05$ ), що відобразилось на зменшенні співвідношення  $2c/4c$ , яке становило 3,25 проти 4,28 у інтактних тварин (рис. 8.2).

*Таблиця 8.2.*

**Показники плідності набору ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному ХТГ та його лікуванні гепатопротекторами, М±σ**

Група	Показники			
	2с %	4с %	8с %	понад 8с %
1. Контроль, n=10	76,60±5,72	17,91±4,91	3,23±1,18	2,26±1,16
2. Порівняння, n=16	69,93±3,71*	21,52±2,69	3,64±0,82	4,91±1,58**
3. Антраль, n=20	83,10±1,77# p3-p4=0,034	11,71±0,69*# p3,4=0,034 p3,9=0,08 p3,10=0,08	2,93±0,64	2,27±1,19 p3,4=0,0771
4. Артишок, n=18	74,21±1,11 p4,6=0,034 p4,7=0,034 p4,10=0,049 p4,8 =0,034 p4,11=0,034	18,20±3,42 p4,5=0,034 p4,6=0,034 p4,7=0,034 p4,8=0,03 p4,10=0,049	3,28±0,61	4,33±1,78 p4,6=0,034 p4,7=0,034 p4,10=0,049
5. Біциклол, n=18	80,91±4,51#	12,82±1,90# p5,10=0,08	3,37±1,28	2,91±1,49 p5,7=0,0833
6. Глутаргін, n=20	83,45±0,70*# p6,9=0,083	12,00±0,83# p6,9=0,08 p6,10=0,034	2,69±0,30	1,86±0,43# p6,8=0,08
7. Дарсіл, n=18	80,44±3,05# p7,10=0,08	12,82±1,26# p7,10=0,034	2,78±0,55	1,46±0,56# p7,8=0,043
8. Ессенціале, n=20	80,12±3,85#	12,33±2,23*#	3,68±0,90 p8,11=0,08	3,37±1,13
9. Урсохол, n=19	78,89±4,77 p9,10=0,034	15,93±3,99 p9,10=0,034	2,68±0,69	2,50±1,24
10.Тіотриазолін, n=18	85,15±1,83*#	10,33±0,93*# p10,11=0,08	2,73±0,53	1,80±0,36#
11. Галстена, n=17	80,57±5,55#	14,17±3,41#	2,65±0,91	2,99±2,07

Зміна співвідношення між відсотком 2с та 4с ядер свідчить про зменшення регенерації ушкодженого органу, а саме процесів проліферації, за умов впливу гепатотоксинів на печінку статевонезрілих щурів, адже відомо, чим вища спеціалізація клітин, тим менша їх здатність до проліферації. Ми вважаємо, що це стосується і печінки, незважаючи на її надзвичайно високу



потенцію до регенерації. Також подібна динаміка вказаного співвідношення можлива і за рахунок переважної загибелі 2с-гепатоцитів, спричиненої впливом  $CCl_4$  та етанолу.

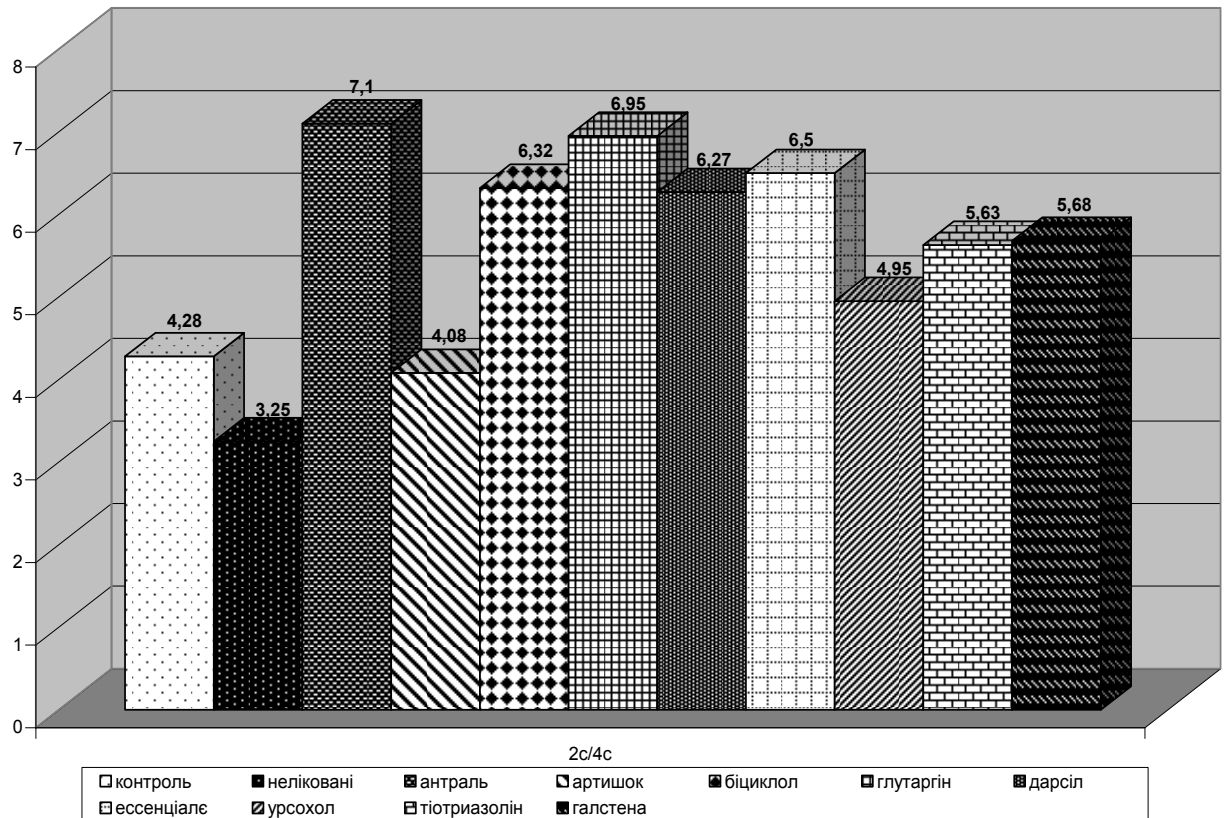


Рис. 8.2. Співвідношення 2с та 4с ядер (%) печінкових клітин у різних групах піддослідних тварин.

Паралельно зі зменшенням відсотку диплоїдних гепатоцитів у нелікованих тварин з  $CCl_4$  та етанол-індукованим ХТГ зареєстровано, що відсоток ядер з набором ДНК  $> 8с$  був збільшеним у 2,2 раза і становив  $4,91 \pm 1,58$  проти  $2,26 \pm 1,16$  % у контролі ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 8.2). Це підтверджується існуванням оберненого кореляційного зв'язку середньої сили між диплоїдним та поліплоїдним понад  $8с$  % набором ДНК ( $r = -0,61$ ,  $p < 0,001$ ). Прямі середні за силою кореляційні зв'язки встановлені між  $4с$  % та  $8с$  % ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,001$ ),  $4с$  % та  $> 8с$  % ( $r = 0,43$ ,  $p < 0,01$ ), а також  $8с$  % та  $> 8с$  % ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,001$ ) набором хромосом у ДНК ядер клітин печінки статевонезрілих щурів з ХТГ.

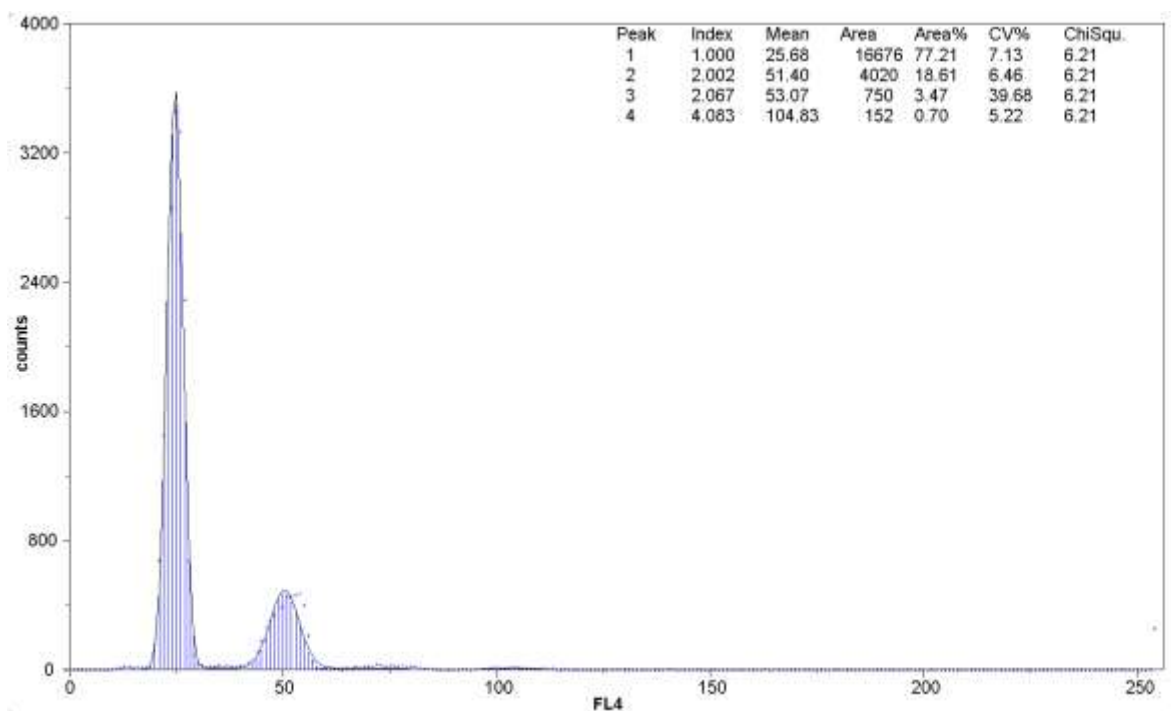
Типовим варіантом регенерації ушкодженої печінки була поліплоїдизація ядер гепатоцитів за рахунок появи нетипових для здорових тварин відповідного віку ядер гепатоцитів із набором ДНК 32с, 64с і більше (див. рис. 8.2). Це підтверджується існуванням оберненого зв'язку між диплоїдним та поліплоїдним (> 8с %) набором ДНК ( $r=-0,61$ ,  $p<0,001$ ).

Очевидно, поліплоїдія при ХТГ у статевонезрілих тварин є захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на виживання органу й організму в цілому, а також для підтримання спеціалізованої функції.

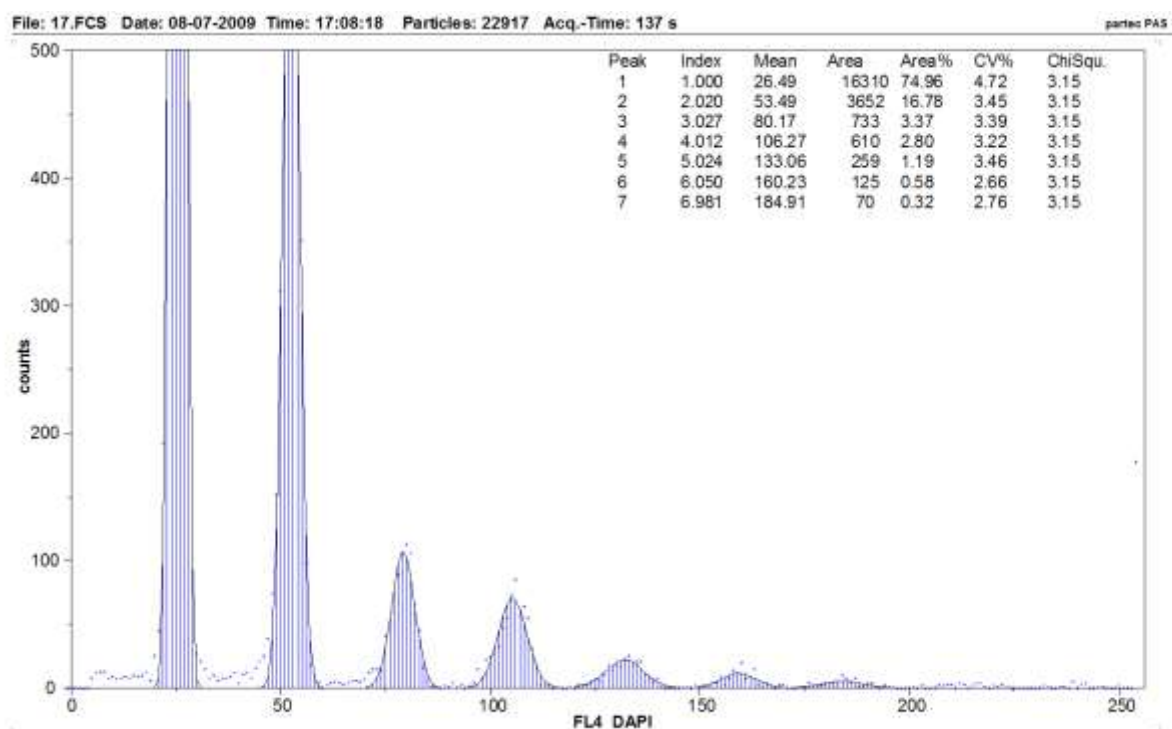
Менший відсоток диплоїдних та більший – поліплоїдних ядер печінкових клітин при дії  $CCl_4$  та етанолу можна пояснити тим, що 2с-клітини є більш чутливими до дії патогенного чинника, тоді як клітини з поліплоїдним ядром є більш стійкими. Також поліплоїдію можна пояснити активацією ПОЛ, продукти якого є своєрідним стимулятором, що можуть індукувати збільшення наборів ДНК. На нашу думку, поліплоїдизація ядер гепатоцитів статевонезрілих тварин у випадку дії ушкоджуючих чинників може бути своєрідним захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на відновлення спеціалізованої функції. Також нами встановлено, що збільшення плоїдності ДНК клітин печінки не веде до збільшення їх реплікативної здатності, а, навпаки, її знижує, але передбачає такий компенсаторно-приспосувальний процес, як регенераційна гіпертрофія – збільшення об'єму клітин, що може сприяти відновленню і маси, і функції органу.

Таким чином, репаративна регенерація печінкових клітин нелікованих статевонезрілих щурів при  $CCl_4$  та етанол-індукованому хронічному ушкодженні відбувається переважно за рахунок поліплоїдизації ядер гепатоцитів. Це доводить той факт, що через шість тижнів від початку експерименту у нелікованих тварин на тлі неповного відновлення відсотку диплоїдних ядер клітин паренхіми печінки відсоток ядер, які перебувають у S-фазі КЦ, є у 1,5 раза більшим у порівнянні з ідентичними за віком статевонезрілими щурами контрольної групи. Цьому не суперечить більший

відсоток тетра-, окта- та, особливо, поліплоїдних ядер у клітинах печінки з набором ДНК понад 8с (рис. 8.3).



### Контроль



### Нелікована тварина з ХТГ

Рис. 8.3. Розподіл ядер клітин печінки статевонезрілих щурів за класами плідності. Тут і далі : цифрові дані (зліва-направо) : Peak – номер піку (1

– 2с, 2 – 4с, 3 – 8с, 4 – 16с, 5 – 32с, 6 – 64с, 7 – 128с); CV % – відносний коефіцієнт варіації піку (відносна ширина піку відповідності Гауса).

Цей механізм не є достатньо ефективним і не може забезпечити повну регенерацію ушкодженої печінки. Менше значення у нелікованих тварин, на нашу думку, має проліферація спеціалізованих диплоїдних печінкових клітин.

Поліплоїдія ядер гепатоцитів нелікованих щурів із ХТГ спостерігалась і при гістологічному дослідженні (рис. 8.4).

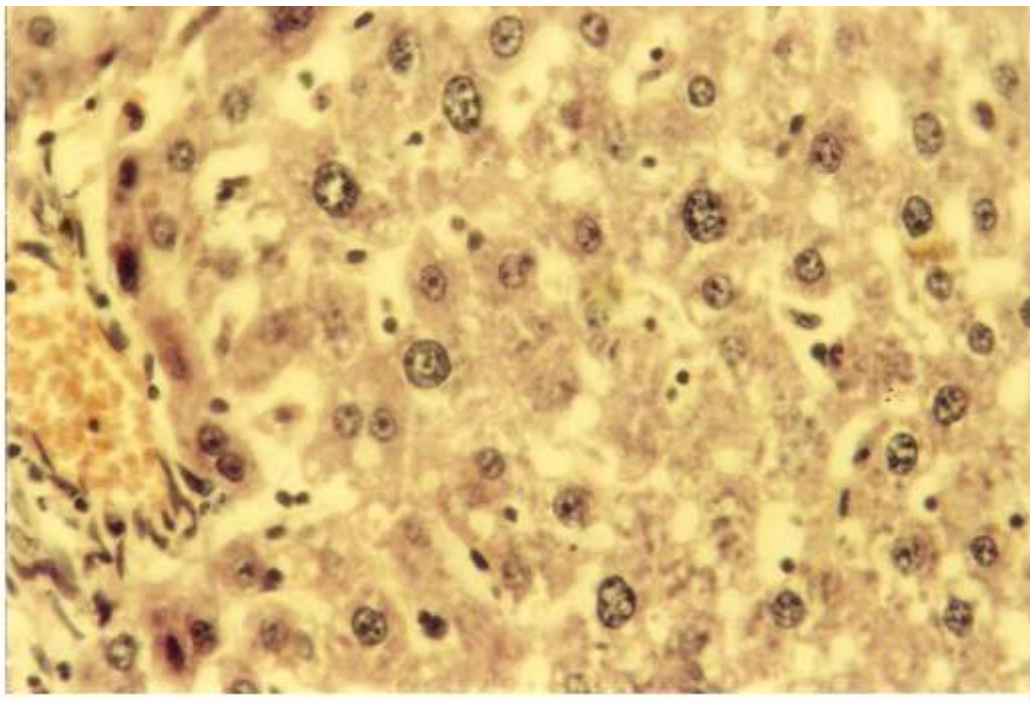


Рис. 8.4. Поліплоїдія ядер гепатоцитів у ділянці перипортального некрозу часточки печінки нелікованого статевонезрілого щура із моделлю хронічного токсичного гепатиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Одночасно зареєстрована більша кількість ядер гепатоцитів у S-фазі КЦ та популяції поліплоїдних гепатоцитів при ХТГ у статевонезрілих щурів супроводжується значним посиленням патології ядра, тобто фрагментацією ДНК. Між показником фрагментації ДНК ядер клітин печінки та S-фазою встановлено прямий кореляційний зв'язок слабкої сили ( $r=0,28$ ,  $p<0,001$ ). Тобто посилення патогенно індукованого апоптозу, який синхронно з некрозом відбувається у тканині печінки при поєднаній дії ССІ та етанолу, прямо

корелює із компенсаторним посиленням фази синтезу ДНК у печінкових клітинах, проте є недостатнім для повного відновлення структури і функції органу. Альтерація паренхіми печінки гепатотоксинами, яка проявляється процесами некроаптозу і одночасно ініціює активацію КЦ, тобто перехід клітин із фази спокою ( $G_0$ ) у фази  $G_1$ , S,  $G_2M$ , свідчить про включення захисних механізмів, спрямованих на збереження цілісності органу.

Більший відсоток поліплоїдних ядер печінкових клітин, а саме тетраплоїдних, октаплоїдних та особливо значно більший відсоток ядер із плоїдністю понад  $8c$ , з одного боку, свідчить про їх виживання в умовах дії гепатотоксинів, оскільки відомо, що поліплоїдні клітини більш стійкі до дії ушкоджуючих чинників, а з іншого - про появу регенераторної здатності, спрямованої на відновлення спеціалізованої функції печінки у відповідь на ушкодження.

## **8.2. Результати дослідження стадій клітинного циклу та плоїдності набору ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів із хронічним токсичним гепатитом, які отримували гепатопротектори**

Дослідження МПЦ показників КЦ ядер клітин печінки статевонезрілих щурів при лікуванні ХТГ в експерименті показало, що усі препарати, які застосовуються як гепатопротектори, за винятком екстракту артишоку, з високим ступенем достовірності збільшують відсоток клітин, ядра яких перебувають в інтервалі  $G_0/G_1$ , у порівнянні з тваринами групи порівняння. Найбільшим цей показник виявився при застосуванні тіотриазоліну ( $87,10 \pm 2,45$  % проти  $71,08 \pm 3,65$  %,  $p < 0,01$ ) (рис. 8.5). Достатньо високим – при введенні антралю ( $85,82 \pm 2,06$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 8.6) та глутаргіну ( $85,42 \pm 1,31$ ,  $p < 0,01$ ). Дещо меншим, але практично однаковим, відсоток ядер печінкових клітин у фазі  $G_1$  нами зафіксовано при лікуванні урсохолом ( $83,68 \pm 3,97$ ,  $p < 0,01$ ), галстеною ( $83,38 \pm 3,65$ ,  $p < 0,01$ ), есенціалє ( $83,24 \pm 3,45$ ,  $p < 0,01$ ), біциклолом ( $83,13 \pm 3,87$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 8.7) та дарсілом ( $82,56 \pm 2,78$ ,  $p < 0,01$ ). Певні відмінності виявлені

при застосуванні рослинного гепатопротектору на основі екстракту артишоку : відсоток ядер у інтервалі  $G_0-G_1$  становив лише  $(73,14 \pm 3,50)$  (рис. 8.8), і не мав достовірної різниці у порівнянні з нелікованими тваринами (див. табл. 8.1).

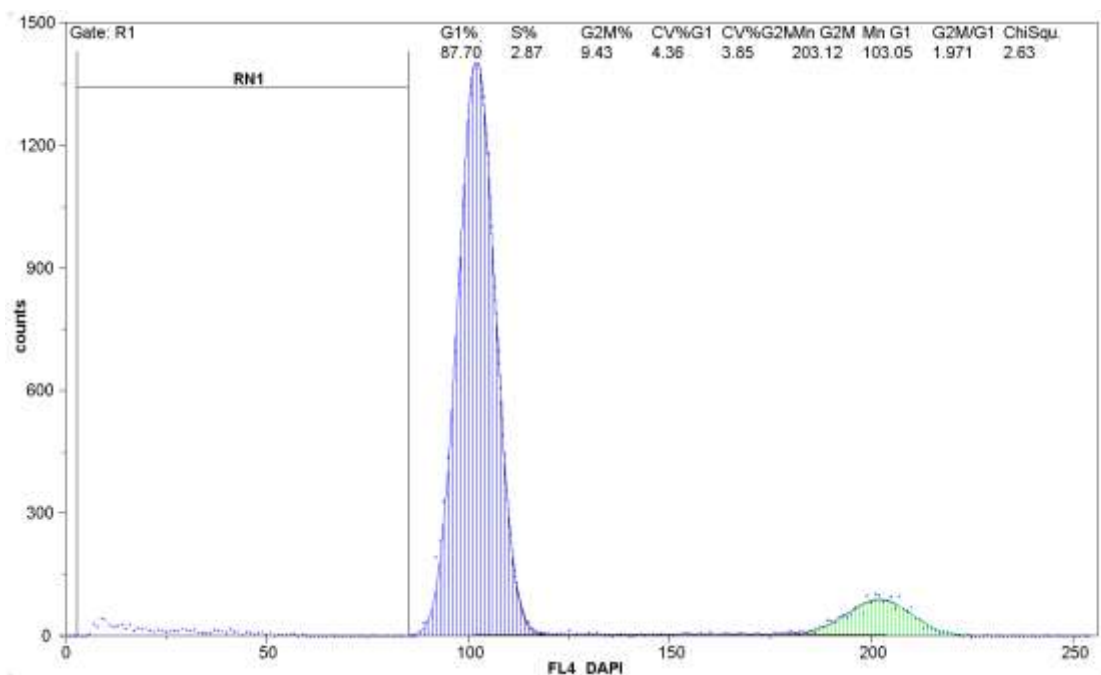


Рис. 8.5. Фази клітинного циклу печінкових клітин статевонезрілого щура з ХТГ на тлі введення тіотриазоліну.

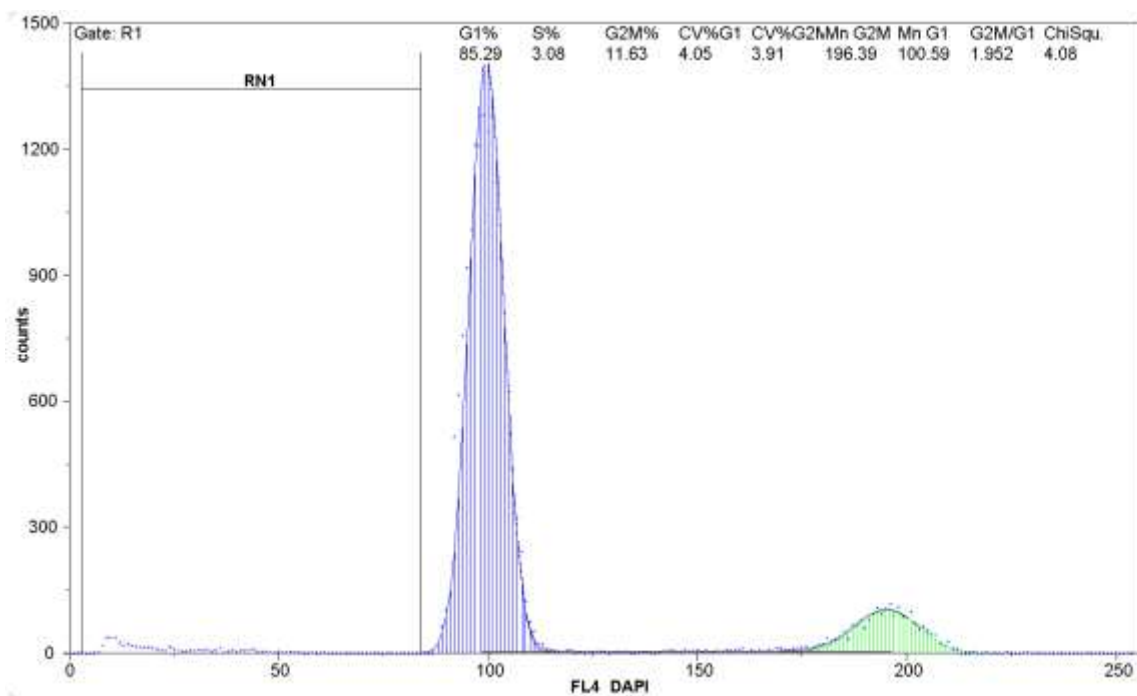


Рис. 8.6. Фази клітинного циклу печінкових клітин статевонезрілого щура з ХТГ на тлі введення антралю.

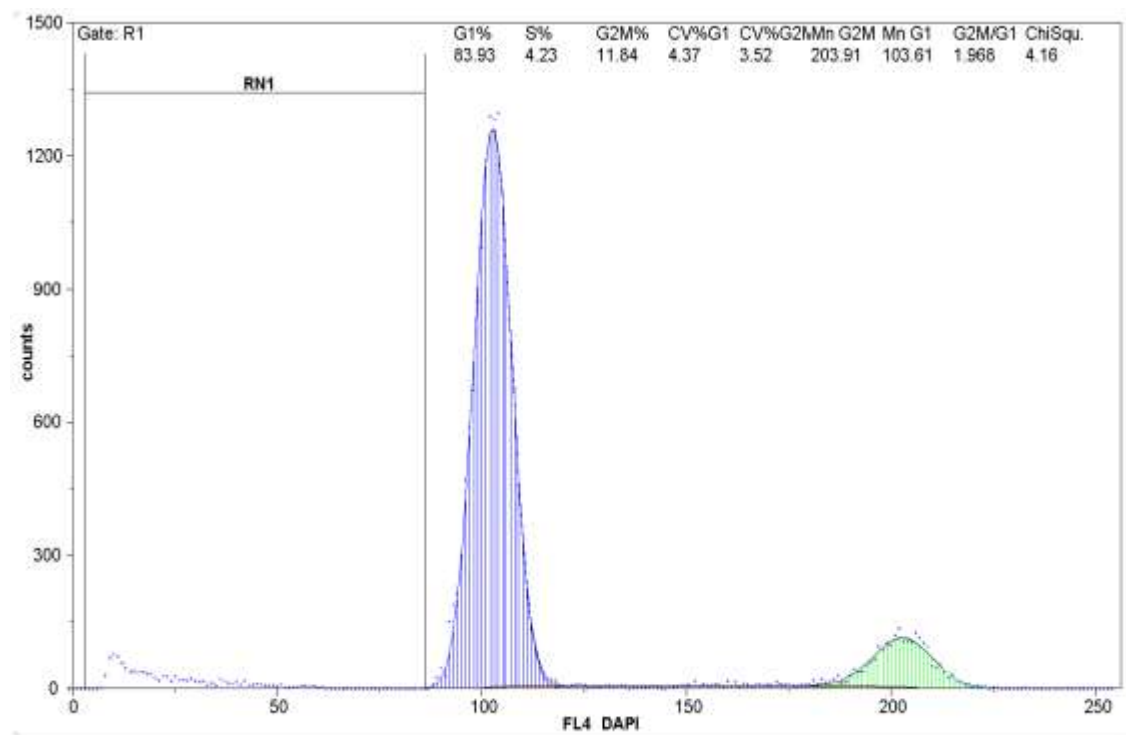


Рис. 8.7. Фази клітинного циклу печінкових клітин статевонезрілого щура з ХТГ при застосуванні біциклолу.

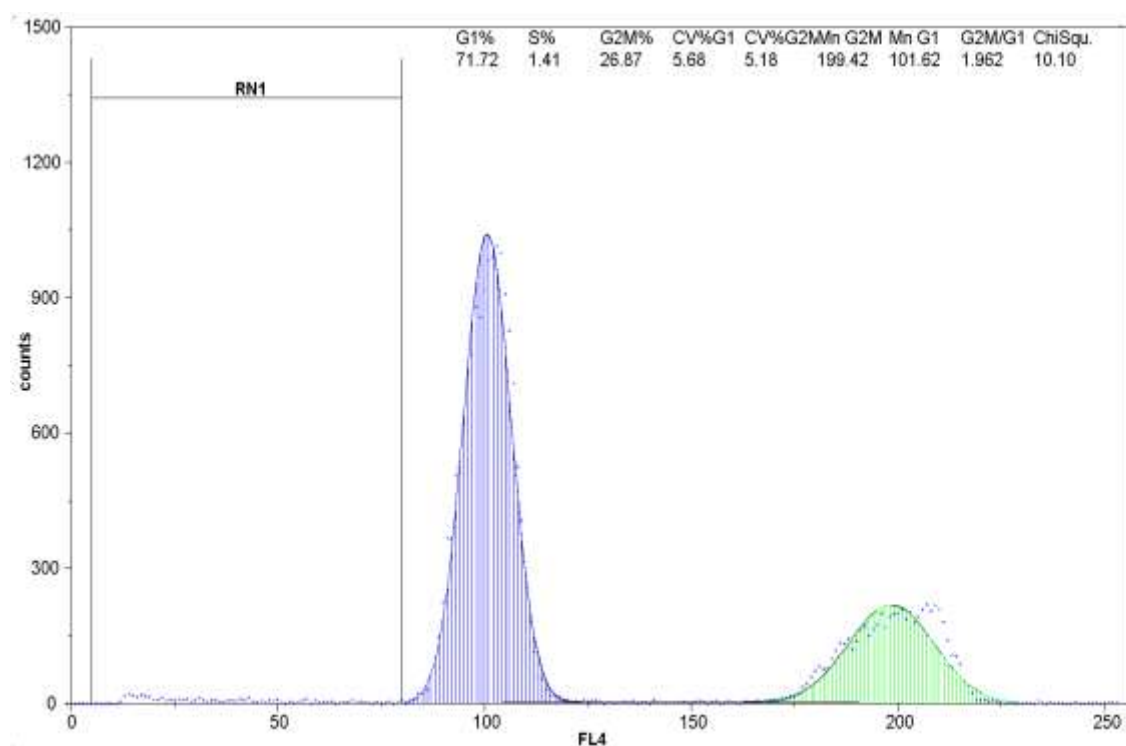


Рис. 8.8. Фази клітинного циклу печінкових клітин статевонезрілого щура з ХТГ при застосуванні артишоку.





При порівнянні інтервалу  $G_0-G_1$  у тварин, які отримували гепатопротектори, з аналогічним у тварин контрольної групи, який становив  $76,48 \pm 2,53$  %, встановлена достатньо висока достовірна різниця із групами дослідів, в яких тварини з ХТГ отримували антраль, глутаргін, дарсіл, урсохол, тіотриазолін та галстену. При введенні даних препаратів ступінь достовірності величин, що порівнювалися, за Манном-Уїтні становив  $<0,01$ . Дещо менша різниця, як і ступінь її достовірності, була встановлена при введенні біциклолу та есенціале ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 8.1).

Таким чином, якщо порівняти вплив різних гепатопротекторів на інтервал КЦ  $G_0-G_1$ , простежується наступна закономірність : усі досліджувані препарати, за винятком рослинного гепатопротектору на основі артишоку, суттєво збільшують відсоток ядер у даних фазах, при цьому ступінь достовірності становить ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з нелікованими тваринами. Це засвідчує посилення диференціації та функціональної спеціалізації гепатоцитів, які не мали незворотного ушкодження. Суттєво більший відсоток диплоїдних ядер гепатоцитів у фазі  $G_1$  порівняно не лише з нелікованими тваринами, а і з контролем, на наш погляд, слід розцінювати як процес компенсації спеціалізованої функції, коли дистрофічно змінені гепатоцити не можуть виконувати її в повному обсязі. Ми розглядаємо це як позитивний вплив ряду гепатопротекторів.

Найбільший відсоток ядер, які перебували в інтервалі  $G_0-G_1$ , зареєстровано при застосуванні вітчизняного синтетичного гепатопротектору тіотриазолін у статевонезрілих щурів із ХТГ (рис. 8.9). Тоді як при введенні препаратів біциклол та есенціале форте  $N$  відсоток ядер у даних фазах був достовірно меншим. При введенні експериментальним тваринам з лікувальною метою рослинного гепатопротектору на основі розторопші плямистої дарсіл показник  $G_0-G_1$  % був дещо нижчим, ніж при застосуванні синтетичного препарату антраль ( $p < 0,05$ ) та гепатопротектору на основі глутаміну та аргініну глутаргін ( $p = 0,088$ ) (див. табл. 8.1).

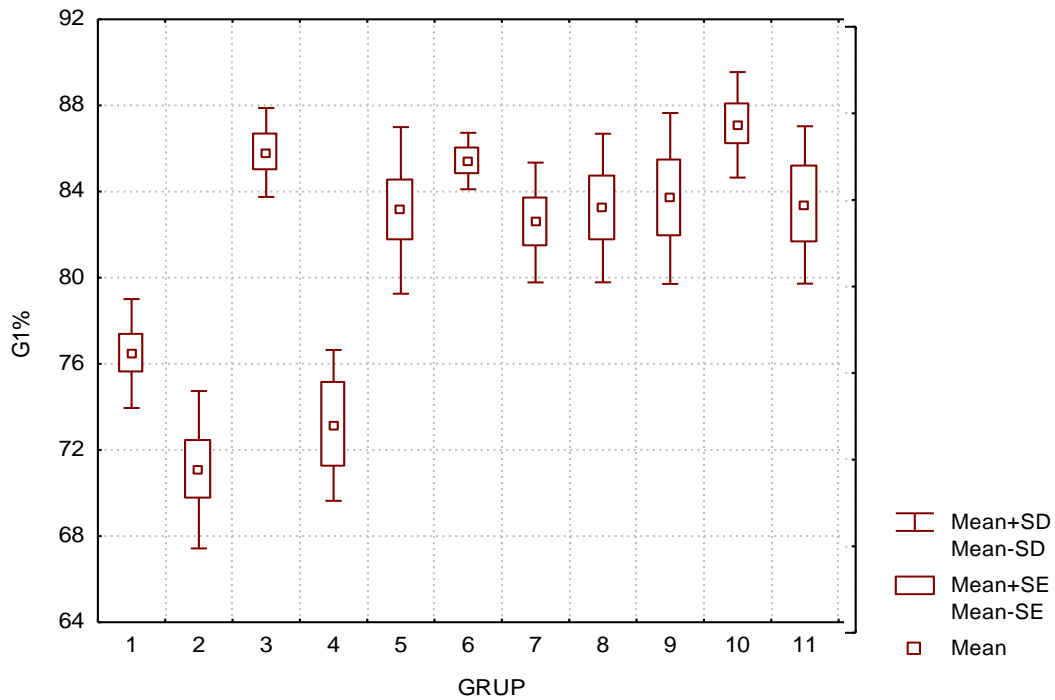


Рис. 8.9. Кількість ядер печінкових клітин (%) у фазі спокою та пресинтетичній фазі (інтервал  $G_0$ - $G_1$ ) з диплоїдним набором хромосом. Цифрові позначення піддослідних груп тварин тут і далі (по горизонталі) : 1 – контрольна група; 2 – нелікована група із ХТГ; тварини із ХТГ, які отримували : 3 – антраль; 4 – артишоку екстракт; 5 – біциклол; 6 – глутаргін; 7 – дарсіл; 8 – есенціалє; 9 – урсохол; 10 – тіотриазолін; 11 – галстена.

Дещо інші результати спостерігались щодо відсотку клітин, які перебували у S-фазі : найвищий показник зареєстрований при лікуванні біциклолом ( $4,13 \pm 0,38$  % проти  $2,30 \pm 0,73$  % у контрольній групі,  $p < 0,01$ ), дещо менший показник, але перевищував контрольний, при застосуванні тіотриазоліну ( $3,33 \pm 0,98$  %,  $p < 0,05$ ), есенціалє ( $3,32 \pm 1,33$  %,  $p > 0,05$ ), дарсілу ( $3,14 \pm 1,06$  %,  $p > 0,05$ ). Тоді ж як при застосуванні антралю, урсохолу, глутаргіну, артишоку та галстени даний показник майже не відрізнявся від аналогічного у групі контролю. Найнижчим виявився цей показник у групі піддослідних тварин, які отримували гомеопатичний препарат з гепатопротекторними властивостями галстена, оскільки кількість ядер, які

перебували у фазі синтезу ДНК була у 1,5 раза меншою, ніж у нелікованих тварин ( $p=0,059$ ) (див. табл. 8.1). Отже, за впливом на посилення фази синтезу ДНК, як важливого показника регенерації, найбільш активними виявились біциклол, тіотриазолін, ессенціалє та дарсіл (рис. 8.10).

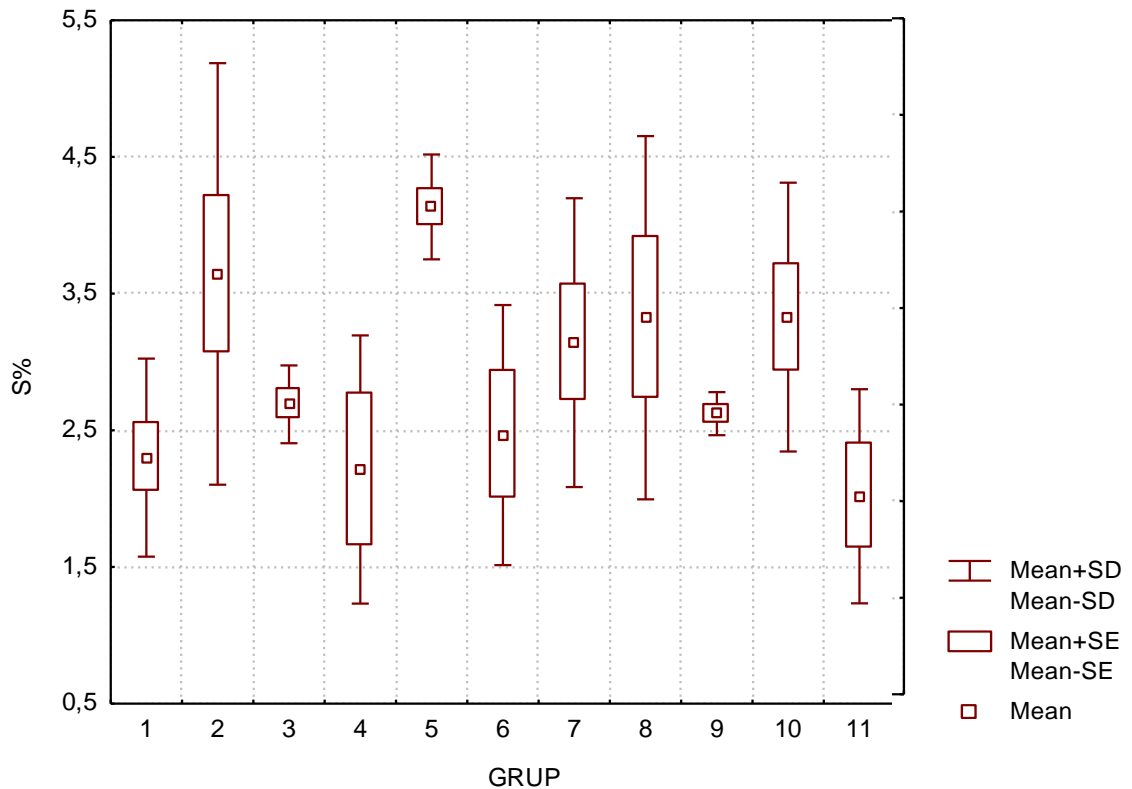


Рис. 8.10. Кількість ядер печінкових клітин (%) у фазі синтезу ДНК (S-фаза).

При порівнянні ефективності різних гепатопротекторів за впливом на S-фазу КЦ печінкових клітин встановлено, що біциклол достовірно перевищував аналогічний ефект гепатопротекторів антраль ( $p<0,01$ ), артишоку екстракт ( $p<0,05$ ), глутаргін ( $p<0,01$ ), урсохол ( $p<0,01$ ) та галстена ( $p<0,01$ ) та мав тенденцію до достовірності різниці – із препаратом дарсіл ( $p=0,063$ ). Що стосується синтетичного гепатопротектору тіотриазолін, то аналогічний ефект у нього перевищував такий лише у гомеопатичного препарату галстена ( $p=0,055$ ) (див. табл. 8.1).

Таким чином, ряд гепатопротекторів, що досліджувалися, володіють фармакологічним ефектом, який полягав у підсиленні синтезу білків у певної

кількості гепатоцитів, що, у свою чергу, на клітинному рівні значно підсилювало їх потенціал до проліферації, тобто, до регенерації. На основі отриманих цитофлуориметричних даних можна передбачити, що синтетичний гепатопротектор, створений на основі шизадрину – біциклол найбільш інтенсивно впливає на процеси синтезу ДНК у ядрах печінкових клітин, оскільки активує синтетичну фазу КЦ.

Встановлено, що постсинтетична та мітотична фази (інтервал  $G_2M$ ) КЦ ядер печінкових клітин в умовах ХТГ та його лікуванні гепатопротекторами представлені наступним чином : в усіх групах експериментальних тварин, які отримували лікування, за винятком щурів, яким вводили артишоку екстракт, даний показник був достовірно меншим і відрізнявся як від показника у нелікованих тварин, так і від інтактних тварин контрольної групи (рис. 8.11). Зокрема, при застосуванні вітчизняного синтетичного гепатопротектору антраль відсоток ядер у клітинах тканини печінки, які перебували в інтервалі  $G_2M$  становив  $(11,50 \pm 1,88) \%$  проти  $(25,27 \pm 4,04) \%$  ( $p < 0,01$ ) у нелікованих тварин, а також проти  $(21,22 \pm 3,09) \%$  ( $p < 0,01$ ) у контролі (див. табл. 8.1).

При пероральному введенні закордонного синтетичного препарату біциклол відсоток ядер у інтервалі  $G_2M$  становив  $(12,74 \pm 3,55) \%$  ( $p < 0,01$  порівняно як з нелікованими тваринами, так і з контролем). Даний показник Відсоток ядер у фазах  $G_2M$  практично не відрізнявся від аналогічного при застосуванні глутаргіну, який склав  $(12,11 \pm 0,43) \%$  ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно) (див. табл. 8.1).

При введенні рослинного препарату на основі розторопші плямистої дарсіл інтервал  $G_2M$  був зменшеним до  $(14,29 \pm 2,26) \%$  ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно). Подібна тенденція зареєстрована і при застосуванні галстени  $(14,61 \pm 4,25) \%$  ( $p < 0,01$  та  $p < 0,05$  відповідно) (див. табл. 8.1).

Що стосується впливу есенціале на відсоток ядер, які перебувають у постсинтетичній та мітотичній фазах, то його ефект прирівнюється до такого в урсохолу і становить відповідно (див. табл. 8.1), незважаючи на те, що механізми дії цих препаратів різні.

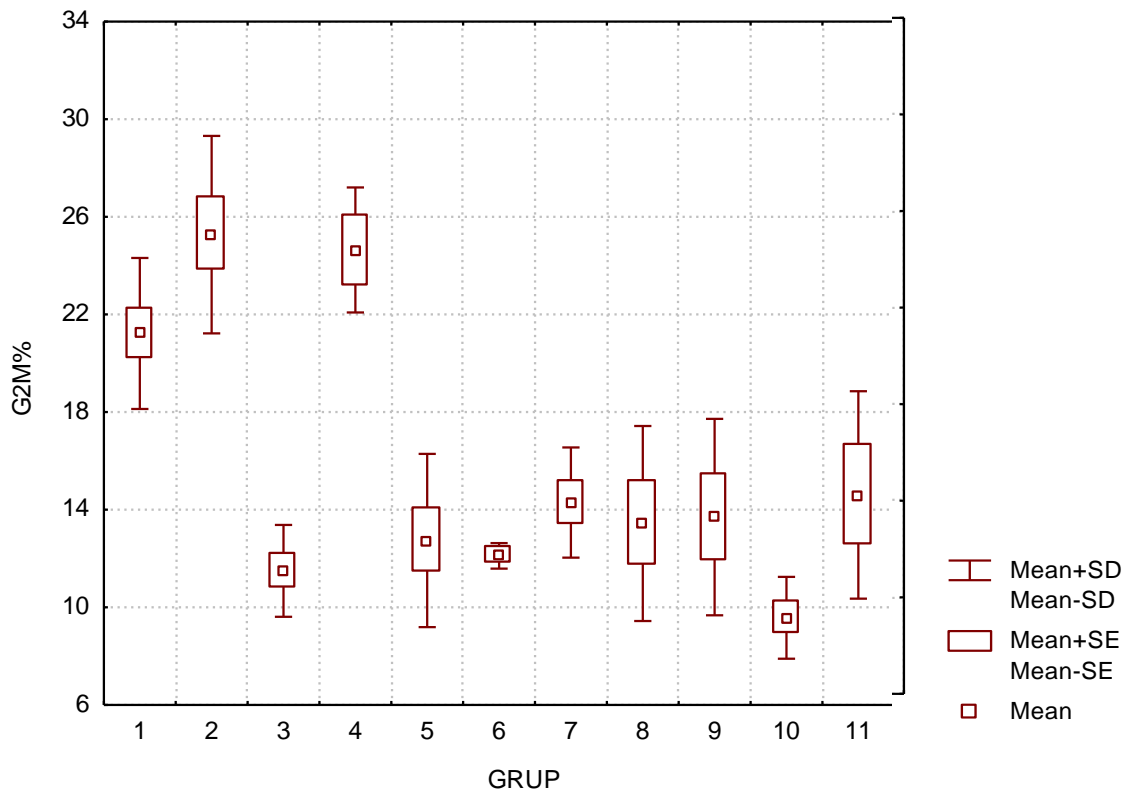


Рис.8.11. Кількість ядер печінкових клітин (%), які перебувають у постсинтетичній та мітотичній фазах (інтервал  $G_2M$ ) із тетраплоїдним набором хромосом.

Заслуговує на особливу увагу потужний негативний вплив на мітотичну активність у КЦ ядер печінкових клітин вітчизняного синтетичного гепатопротектору тіотриазолін, який майже у два рази пригнічував фази  $G_2M$  ( $9,57 \pm 1,68$ ) % ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 8.1), незважаючи на достатньо великий відсоток ядер у S-фазі, і в цьому проявляється зворотна залежність із впливом на інтервал  $G_0-G_1$ .

Абсолютно протилежний ефект зареєстровано у артишоку екстракт, застосування якого майже не вплинуло на мітотичний потенціал, оскільки показник  $G_2M$  не відрізнявся від аналогічного у нелікованих тварин і становив ( $24,64 \pm 2,56$ ) % ( $p > 0,05$ ) (див. табл. 8.1). Це узгоджується з невеликим відсотком 2с-клітин, які знаходились у інтервалі  $G_0-G_1$  і виконували спеціалізовану функцію у тварин даної групи.

За здатністю до зменшення відсотку ядер, які перебувають у постсинтетичній та мітотичній фазах (інтервал  $G_2M$ ), такі препарати, як антраль, біциклол, глутаргін, дарсіл, есенціалє, урсохол, тіотриазолін та галстена з однаковим ступенем достовірності ( $p < 0,05$ ) перевищували аналогічну дію артишоку екстракт. Проте дарсіл достовірно поживавлював мітотичну активність у порівнянні з гепатопротекторами біциклол та глутаргін відповідно на 10,8 % та 15,3 %, а отже, потужніше впливав на процеси проліферації. Слід відмітити найменшу мітотичну активність ядер гепатоцитів піддослідних тварин з експериментальним ХТГ при застосуванні тіотриазоліну (рис. 8.11). За величиною показника  $G_2M$  він виявився на 49,3 % меншим від такого при введенні дарсілу ( $p < 0,01$ ), на 40,4 % – від есенціалє ( $p < 0,05$ ), на 33,1 % – від біциклолу ( $p < 0,05$ ), на 26,5 % – від глутаргіну ( $p < 0,05$ ), та на 52,7 % – від галстени ( $p = 0,088$ ). Можливо цей ефект слід враховувати при виборі гепатопротектора для лікування ХГ з ознаками гіперплазії органу, або при підозрі на малігнізацію.

Подібна динаміка відстежувалась і відносно індексу проліферації (PI), оскільки встановлено, що інтервал  $G_2M$  прямо корелював із PI, причому цей зв'язок був достатньо сильним ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,001$ ). Усі гепатопротектори, за винятком артишоку екстракт», суттєво і достовірно знижували вказаний показник у порівнянні з таким як у нелікованих, так і контрольних тварин (рис. 8.12). Так при лікуванні антралем PI становив  $(14,19 \pm 2,06)$  % проти  $(28,92 \pm 3,65)$  % ( $p < 0,01$ ) у нелікованих тварин, та проти  $(23,52 \pm 2,53)$  % ( $p < 0,01$ ) у контролі. При введенні дарсілу даний показник склав  $(17,44 \pm 2,78)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно), біциклолу –  $(16,87 \pm 3,86)$  % ( $p < 0,01$  і  $p < 0,05$  відповідно), есенціалє –  $(16,76 \pm 3,45)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,05$  відповідно), галстени –  $(16,62 \pm 3,66)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно), урсохолу –  $(16,32 \pm 3,97)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно), глутаргіну –  $(14,58 \pm 1,32)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно), тіотриазоліну –  $(12,90 \pm 2,45)$  % ( $p < 0,01$  та  $p < 0,01$  відповідно) (див. табл. 8.1).

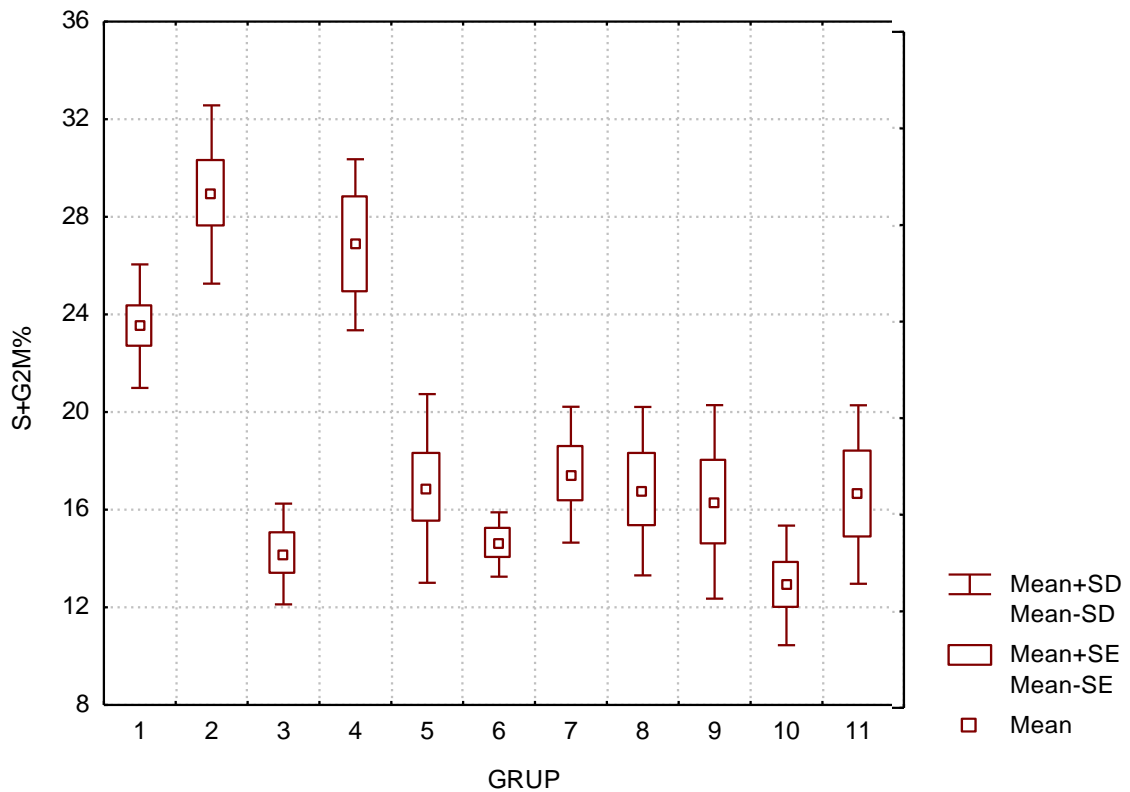


Рис. 8.12. Індекс проліферації (S+G<sub>2</sub>M) у клітинному циклі гепатоцитів в залежності від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ, %.

Слід підкреслити, що при введенні експериментальним тваринам із ХТГ рослинного гепатопротектору артишоку екстракт, індекс проліферації, як й інтервал G<sub>2</sub>M, суттєво перевищував аналогічні показники у тварин інших піддослідних груп, які отримували лікування, і становив 26,86±3,50 %, що перевищує такий у контрольних і було близьким до даного показника у нелікованих тварин (див. табл. 8.1).

Проведений аналіз кореляційного зв'язку між окремими показниками, що досліджувалися, показав наявність сильного оберненого кореляційного зв'язку між показниками G<sub>1</sub> % і G<sub>2</sub>M % ( $r=-0,97$ ,  $p<0,001$ ), G<sub>1</sub> % та PI ( $r=-1,00$ ,  $p<0,001$ ).

Порівнюючи величини PI у піддослідних тварин, які отримували лікування, у залежності від вибору гепатопротектору встановлено, що за здатністю до зниження даного показника такі гепатопротектори, як антраль, біциклол, глутаргін, дарсіл, есенціалє, урсохол, тіотриазолін та галстена, з

однаковим ступенем достовірності ( $p < 0,05$ ) перевищували аналогічний ефект у артишоку». Найнижчий показник мітотичної активності (інтервал  $G_2M$ ) та PI був зареєстрований у тіотриазоліну. Індекс проліферації при введенні даного синтетичного гепатопротектору статевонезрілим щурам у якості патогенетичної терапії ХТГ був значно нижчим, ніж при застосуванні з аналогічною метою біциклолу ( $p < 0,05$ ), дарсілу ( $p < 0,05$ ) та есенціалє ( $p = 0,068$ ). Даний ефект у дарсілу перевищував такий не лише у тіотриазоліну ( $p < 0,05$ ), але й у глутаргіну ( $p = 0,088$ ) (див. табл. 8.1).

Паралельно із дослідженням фаз КЦ за допомогою МПЦ визначалась фрагментація ДНК ядер печінкових клітин, яка є прямим показником апоптозу і представлена на гістограмах інтервалом  $RN_1$  (див. рис. 8.1). Фрагментацію ДНК встановлювали за фактом зменшення плоідності ядер  $< 2c$ , тобто, за субдиплоїдною ділянкою.

Результати проведених досліджень дали можливість оцінити вплив гепатопротекторів на патологічно індукований апоптоз при ХТГ в експерименті (рис. 8.13). Вони показали, що найменша кількість ядер з ознаками фрагментації ДНК зареєстрована при застосуванні екстракту артишоку, яка становила  $(2,95 \pm 0,37)$  % проти  $(5,32 \pm 1,66)$  % у нелікованих тварин ( $p < 0,05$ ), тобто, була меншою у 1,8 раза. Даний показник був близький до аналогічного у тварин контрольної групи, який склав  $(2,57 \pm 0,55)$  % (див. табл. 8.1). Отже, даний рослинний гепатопротектор зменшує фрагментацію ДНК, що вказує на пригнічення патогенно індукованого апоптозу і є, на наш погляд, позитивним патогенетичним механізмом дії, який вперше нами встановлений як фармакологічний ефект у даного препарату, спрямований на збереження маси органу.

Дещо менше, але достовірно зменшення фрагментації ДНК у порівнянні з тваринами із ХТГ, які не отримували лікування, виявлено при введенні з лікувальною метою галстени, що становило  $(3,44 \pm 0,37)$  % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 8.1).



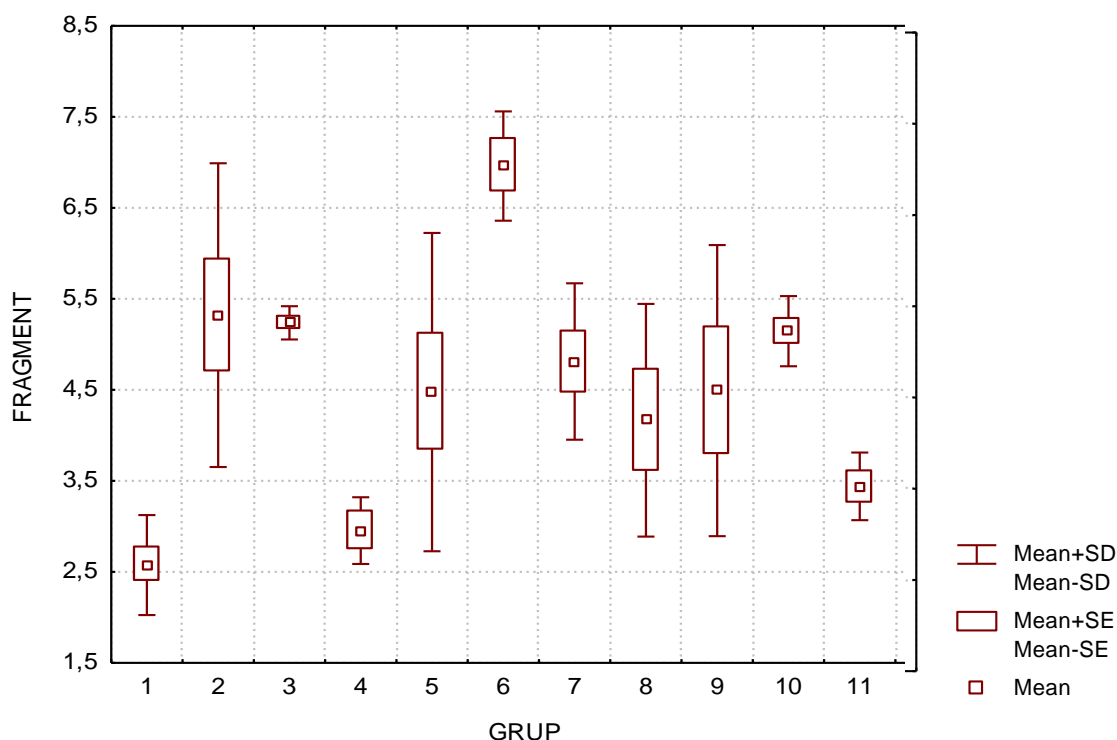


Рис. 8.13. Фрагментація ДНК – кількість ядер клітин печінки (%), із вмістом ДНК менше 2с, тобто, апоптозно змінених у клітинному циклі гепатоцитів у залежності від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ.

При застосуванні інших гепатопротекторів фрагментація ДНК теж зменшувалась у порівнянні з аналогічним показником у нелікованих тварин із ХТГ, проте залишалась досить високою, та суттєво відрізнялась від контролю. На нашу думку, вказані гепатопротектори не володіють достатнім антиапоптичним ефектом. Якщо враховувати, що фрагментацію ДНК можна розцінювати як факт очищення органу від необоротно ушкоджених клітин, які не підлягають відновленню, то такий вплив у більшості препаратів слабкий.

Важливо відмітити, що у піддослідних груп тварин, які отримували глутаргін, субдиплоїдна ділянка виявилась навіть більшою, ніж у тварин із ХТГ, які не отримували лікування і склала  $6,96 \pm 0,60$  % (див. табл. 8.1).

Даний факт підтверджувався і при гістологічному дослідженні мікропрепаратів печінки тварин даної піддослідної групи (рис. 8.14).

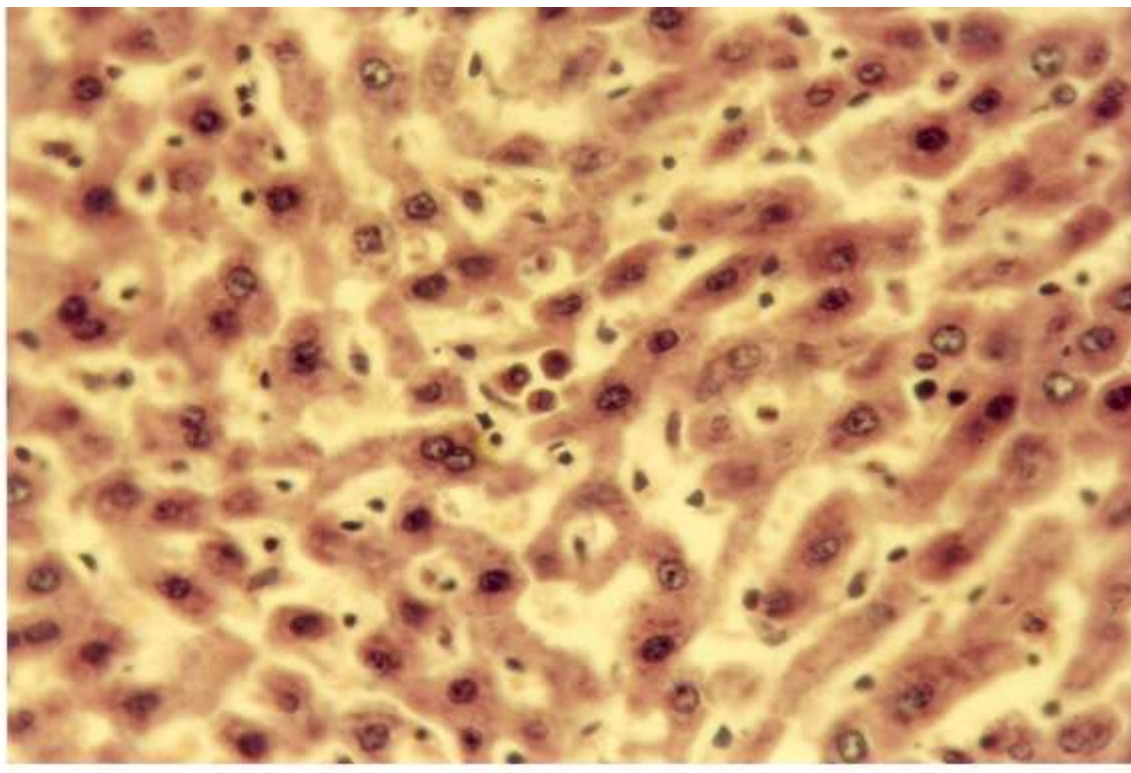


Рис. 8.14. Печінка тварини із ХТГ, якій вводили глутаргін. У розширеному просвіті синусоїдів вільно розміщені еозинофільні (апоптичні) гепатоцити, які нагадують тільця Каунсільмена. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

При порівнянні відносних величин фрагментації ДНК ядер печінкових клітин у тварин з ХТГ, які отримували лікування, встановлено, що даний показник достовірно нижчий при застосуванні артишоку, ніж при введенні антралю, глутаргіну, дарсілу та тіотриазоліну. Тоді як рівень апоптозу при введенні глутаргіну достовірно вищий, ніж при застосуванні антралю, артишоку, біциклолу, дарсілу, есенціалє, тіотриазоліну та галстени, а також спостерігалась тенденція до достовірності різниці у порівнянні із урсохолом ( $p=0,0501$ ). Тварини, які отримували галстену з лікувальною метою мали достовірно нижчий рівень фрагментації ДНК, ніж ті, яким вводили антраль ( $p<0,05$ ), дарсіл ( $p<0,05$ ) та тіотриазолін ( $p<0,05$ ) (див. табл. 8.1).

Отже, можна зробити висновок, що такі гепатопротектори, як артишоку екстракт та галстена зменшують рівень фрагментації ДНК ядер печінкових

клітин у порівнянні з іншими препаратами. Тоді як вітчизняний препарат на основі комбінації глютамінової кислоти та аргініну глутаргін, як донатор оксиду азоту, посилює патогенно індукований апоптоз при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів, що пов'язано, на нашу думку, з активацією індукцибельної NO-синтази.

При аналізі встановленої МПЦ плоідності набору ДНК у клітинах печінки при лікуванні гепатопротекторами виявлено, що відсоток ядер з диплоїдним набором хромосом був збільшений, особливо при застосуванні глутаргіну ( $83,45 \pm 0,70$  %) та тіотриазоліну ( $85,15 \pm 1,83$  %) у порівнянні як з нелікованими ( $p < 0,05$ ), так і з тваринами контрольної групи ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 8.2).

Слід підкреслити, що у тварин усіх піддослідних груп, які отримували лікування, відсоток диплоїдних ядер був достовірно більшим порівняно з нелікованими тваринами з ХТГ (рис. 8.15). За активністю впливу на цей показник гепатопротектори можна розмістити в наступному порядку. Так відсоток ядер, які містили набір хромосом 2с при застосуванні тіотриазоліну склав ( $85,15 \pm 1,83$ ) проти ( $69,93 \pm 3,71$ ) % у нелікованих тварин ( $p < 0,05$ ), глутаргіну – ( $83,45 \pm 0,70$  %,  $p < 0,05$ ), антралю – ( $83,10 \pm 1,77$  %,  $p < 0,05$ ), біциклолу – ( $80,91 \pm 4,51$  %,  $p < 0,05$ ), галстени – ( $80,57 \pm 5,55$  %,  $p < 0,05$ ), дарсілу – ( $80,44 \pm 3,05$  %,  $p < 0,05$ ), есенціалє – ( $80,12 \pm 3,85$  %,  $p < 0,05$ ). При введенні урсохолу кількість ядер з ДНК 2с становила ( $78,89 \pm 4,77$  %,  $p = 0,0501$ ), а артишоку – лише ( $74,21 \pm 1,11$  %,  $p < 0,05$ ) (див. табл. 8.1). Збільшення кількості диплоїдних гепатоцитів у піддослідних тварин, які отримували лікування, ми оцінюємо як позитивний вплив, оскільки репаративна регенерація печінки відбувається головним чином за рахунок проліферації саме клітин з набором хромосом 2с і спрямована, в першу чергу, на збереження спеціалізованої функції ушкодженого органу.

При порівнянні відсотку диплоїдних ядер клітин печінки експериментальних тварин із ХТГ, які отримували різні гепатопротектори, встановлено, що найменший показник зареєстровано при введенні артишоку, що з однаковим ступенем достовірності ( $p < 0,05$ ) відрізняється від аналогічного

при лікуванні тварин антралем, глутаргіном, дарсілом, есенціалє, тіотриазоліном та галстеною. Також слід відмітити, що найбільшою здатністю до збільшення кількості диплоїдних клітин володіє тіотриазолін. Цей ефект достовірно переважає не лише такий у артишоку, але й у есенціалє, урсохолу, подібна тенденція також відмічалась у порівнянні з дарсілом ( $p=0,077$ ) (див. табл. 8.2). На нашу думку, це не свідчить про гіршу ефективність окремих гепатопротекторів, а пояснюється різними механізмами їх дії і фармакологічними ефектами.

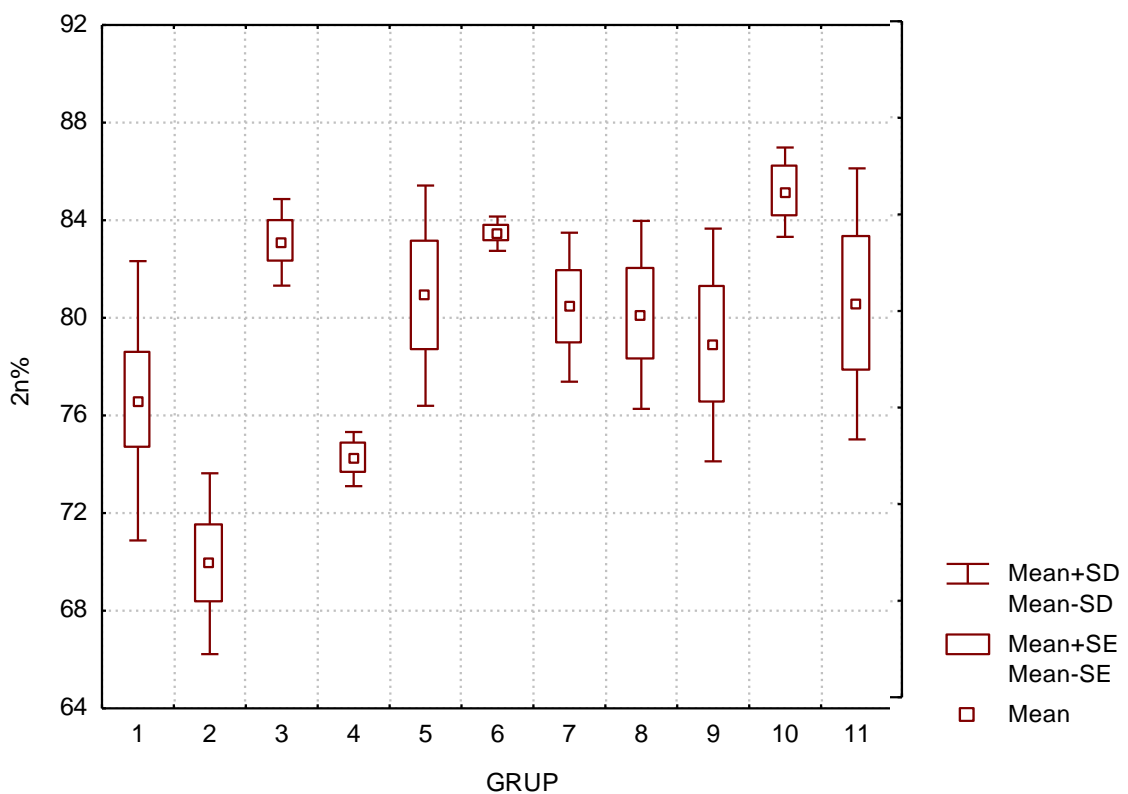


Рис. 8.15. Кількість диплоїдних ядер клітин печінки (2с) залежно від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ, %.

Що стосується тетраплоїдних ядер печінкових клітин, в усіх тварин, які отримували різні гепатопротектори з лікувальною метою, за винятком артишоку, даний показник був суттєво нижчим, ніж у нелікованих, але не досягав контрольних величин (рис. 8.16). Так при введенні тваринам урсохолу кількість 4с ядер становила  $(15,93 \pm 3,99)$  %, галстени –  $(14,17 \pm 3,41)$  %, біциклолу –  $(12,82 \pm 1,90)$  %, дарсилу –  $(12,82 \pm 1,26)$  %, есенціалє –  $(12,33 \pm 2,23)$

%, глутаргіну –  $(12,00 \pm 0,83)$  %, антралю –  $(11,71 \pm 0,69)$  %, тіотриазоліну –  $(10,33 \pm 0,93)$  % з однаковим ступенем достовірності ( $p < 0,05$ ) проти  $(21,52 \pm 2,69)$  % у нелікованих тварин (див. табл. 8.2). Це свідчить про певний позитивний вплив ліків, спрямований на стабілізацію даного показника.

У тварин із ХТГ, які з лікувальною метою отримували есенціалє, антраль та тіотриазолін, відсоток 4с ядер був достовірно нижчим у порівнянні зі здоровими тваринами контрольної групи, в яких цей показник становив  $(17,91 \pm 4,91)$  %,  $p < 0,05$ ). Відмічалась тенденція до зменшення відсотку ядер у клітинах печінки, які містили набір хромосом 4с, при введенні біциклолу ( $p = 0,062$ ), глутаргіну ( $p = 0,089$ ), дарсілу ( $p = 0,089$ ) порівняно з контролем (див. табл. 8.2).

Порівнюючи відсоток тетраплоїдних ядер клітин печінки експериментальних тварин із ХТГ, які з лікувальною метою отримували гепатопротектори, встановлено, що введення антралю, біциклолу, глутаргіну, дарсілу, есенціалє та тіотриазоліну призводить до достовірного їх зменшення порівняно не лише з нелікованими тваринами, а й при лікуванні артишоком, при застосуванні якого відсоток даних ядер виявився найвищим серед усіх груп тварин, які отримували лікування, і становив  $(18,20 \pm 3,42)$  %. При введенні урсохолу кількість 4с ядер була достовірно більшою, ніж при застосуванні тіотриазоліну ( $p < 0,05$ ). Подібна тенденція відмічалась у порівнянні з антралем ( $p = 0,083$ ) та глутаргіном ( $p = 0,083$ ). Найменшим даний показник був зареєстрований при введенні тіотриазоліну, який достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнявся від аналогічного показника при лікуванні тварин глутаргіном, дарсілом, артишоком; тенденція до збільшення відсотку тетраплоїдних клітин зареєстрована також у порівнянні із антралем ( $p = 0,077$ ), біциклолом ( $p = 0,077$ ) та галстеною ( $p = 0,077$ ) (див. табл. 8.2).

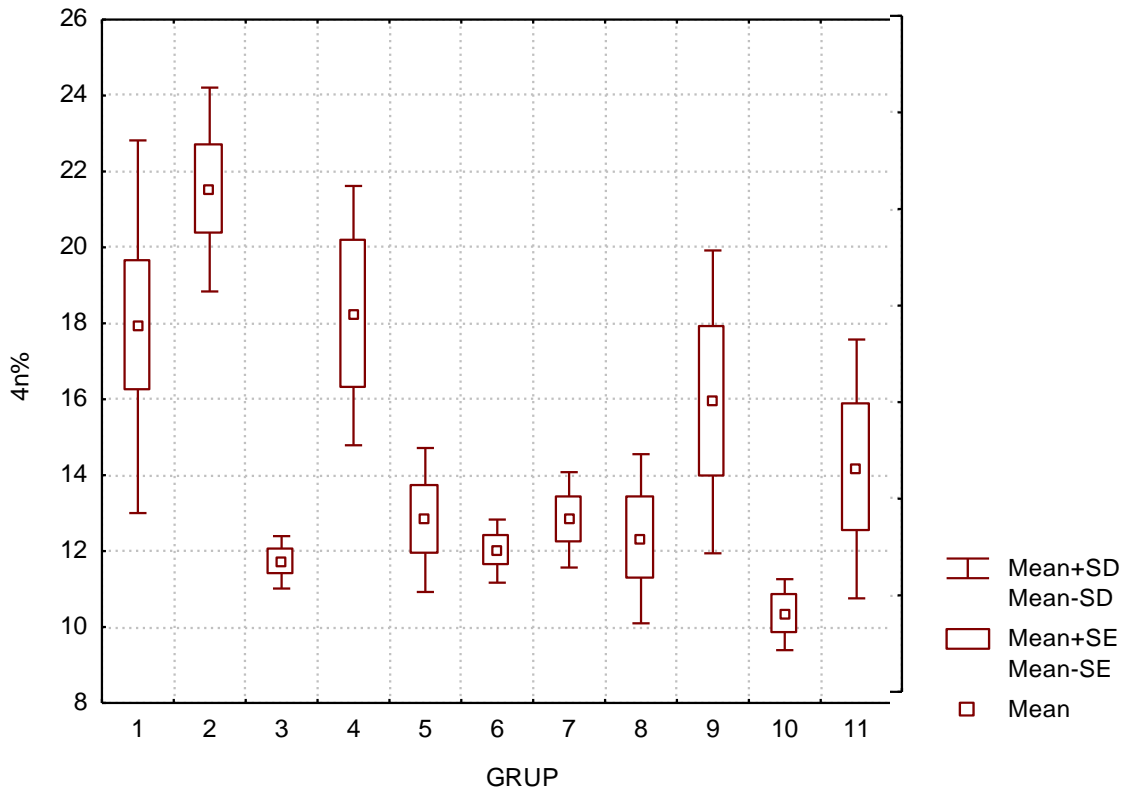


Рис. 8.16. Кількість тетраплоїдних ядер клітин печінки (4с) залежно від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ, %.

Отже, антраль, біциклол, глутаргін, дарсіл, есенціале та тіотриазолін достовірно зменшують відсоток тетраплоїдних ядер у клітинах печінки порівняно не лише з нелікованими тваринами, а й при лікуванні артишоком, (див. рис. 8.16), що, на нашу думку, є позитивним ефектом даних гепатопротекторів.

За кількістю октаплоїдних ядер у клітинах печінки не спостерігалось достовірної різниці у тварин різних піддослідних груп, які отримували лікування, оскільки зареєстровані приблизно однакові позитивні результати (рис. 8.17). Як виняток, не спостерігалось тенденції до нормалізації відсотку 8с ядер при застосуванні есенціале. Даний показник у тварин, які отримували вказаний гепатопротектор на основі ЕФ, виявився максимально високим серед піддослідних груп, які отримували лікування, і мало відрізнявся від такого у нелікованих тварин ( $3,68 \pm 0,90$  % проти  $3,64 \pm 0,82$  %,  $p > 0,05$ ). І навпаки, найнижчий показник серед усіх піддослідних груп виявлено при введенні

гомеопатичного препарату галстена ( $2,65 \pm 0,91$ ) %. Також у жодної із груп піддослідних тварин із ХТГ, які отримували гепатопротектори, не було зареєстровано достовірної різниці у кількості октаплоїдних ядер гепатоцитів у порівнянні з нелікованими тваринами групи контролю (див. табл. 8.2).

Наведені результати щодо октаплоїдії ядер печінкових клітин щурів із експериментальним ХТГ на тлі застосування гепатопротекторів не співпадають з такими, що стосуються відсотку ядер клітин печінки з набором хромосом понад 8с. Встановлено, що при застосуванні таких препаратів, як глутаргін ( $1,86 \pm 0,43$  %,  $p < 0,05$ ), дарсіл ( $1,46 \pm 0,56$  %,  $p < 0,05$ ) та тіотриазолін ( $1,80 \pm 0,36$  %,  $p < 0,05$ ), даний показник був у 2-3 рази нижчим, ніж у тварин із ХТГ, які не отримували лікування ( $4,91 \pm 1,58$ ) %. Аналогічна тенденція була зареєстрована при лікуванні антралем, біциклолом, урсохолом та галстеною. Лише при застосуванні артишоком та есенціалє даний результат хоча і був меншим, проте достовірно не відрізнявся від нелікованих тварин (відповідно  $4,33 \pm 1,78$  % та  $3,37 \pm 1,13$  %,  $p > 0,05$ ) (див. табл. 8.2).

Слід підкреслити, що в усіх експериментальних тварин, які з лікувальною метою отримували гепатопротектори, відсоток поліплоїдних ядер ( $>8с$ ) достовірно не відрізнявся від інтактних тварин контрольної групи (див. табл. 8.2). Відсоток октаплоїдних ядер клітин печінки (8с) у залежності від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ представлена на рисунку 8.17.

Порівнюючи показники плоїдності ДНК, що перевищували октаплоїдний набір ( $>8с$ ) (рис. 8.18) в ядрах клітин печінки тварин із ХТГ, які отримували різне лікування, встановлено, що застосування артишоку має найменший вплив і не знижує вміст даних клітин до рівня норми ( $4,33 \pm 1,78$  % проти  $2,26 \pm 1,16$  %,  $p > 0,05$ ). Тоді як на тлі застосування глутаргіну ( $1,86 \pm 0,43$  %), дарсілу ( $1,46 \pm 0,56$  %) та тіотриазоліну ( $1,80 \pm 0,36$  %) відбувалась достовірна деполіплоїдизація, оскільки відсоток  $>8с$  ядер був меншим, ніж у нелікованих тварин ( $4,91 \pm 1,58$  %,  $p < 0,05$ ).

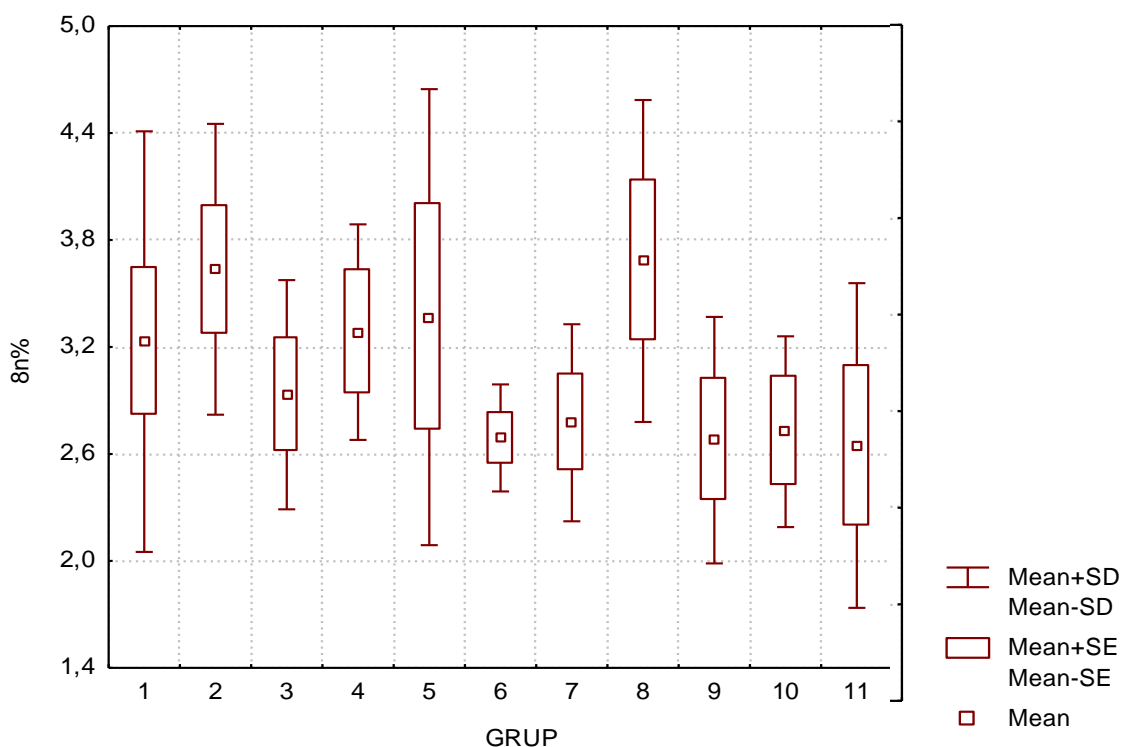


Рис. 8.17. Кількість октаплоїдних ядер клітин печінки ( $8c$ ) залежно від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ, %.

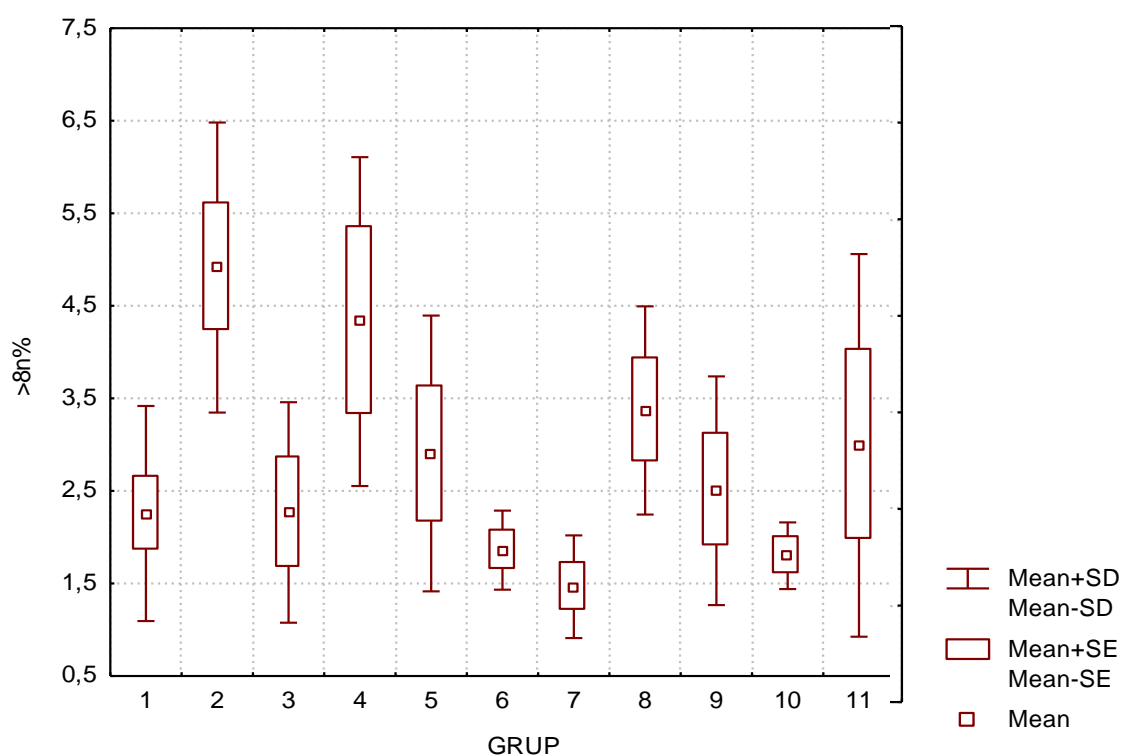


Рис. 8.18. Кількість поліплоїдних ядер клітин печінки, плоїдність яких за набором ДНК понад  $8c$  ( $>8c$ ) залежно від вибору гепатопротектора для лікування експериментального ХТГ, %.



Тенденція до повної нормалізації відсотку поліплоїдних ядер печінкових клітин зареєстрована при введенні антралю у порівнянні з артишоком ( $p=0,077$ ), а також при застосуванні дарсілу порівняно з есенціалє ( $p<0,05$ ) та біциклолом ( $p=0,083$ ), глутаргін – проти есенціалє ( $p=0,083$ ), оскільки антраль, дарсіл та глутаргін зменшують відсоток поліплоїдних ядер у клітинах печінки у порівнянні з нелікованими тваринами з результатом близьким до контролю, що, на нашу думку, є позитивним впливом даних гепатопротекторів (див. табл. 8.2).

Звертає увагу те, що у тварин із ХТГ, які отримували артишоку екстракт та есенціалє, як і у нелікованих тварин, спостерігається більший відсоток поліплоїдних ядер і поява класів плоїдності  $32c$  і більше (рис. 8.19), які не зустрічались в нормальній печінці статевонезрілих щурів контрольної групи, що підтверджувалось гістологічно (рис. 8.20). На наш погляд, поліплоїдизація ДНК ядер гепатоцитів на тлі застосування даних препаратів не може мати однозначну оцінку. З одного боку, це можна оцінити як негативне явище, оскільки поліплоїдні клітини гірше виконують спеціалізовану функцію, ніж диплоїдні, але з іншого – поліплоїдія та регенераторна гіпертрофія є одними із варіантів репаративної регенерації, яка при патології являє собою компенсаторно-приспосувальний механізм призначений для відновлення маси органу. Також слід мати на увазі, що у поліплоїдних ядрах можуть частіше виникають зміни генетичного матеріалу, що спричиняє пухлинний ріст.

Таким чином, поліплоїдію слід розглядати як характерну ознаку популяції гепатоцитів, виділених із патологічно зміненої, ураженої гепатотоксинами ( $CCl_4$  у поєднанні з етанолом) печінки статевонезрілих щурів, на яку можна впливати, застосовуючи у якості лікування такі гепатопротектори, як дарсіл, глутаргін, тіотриазолін, антраль, урсохол, біциклол, галстена.

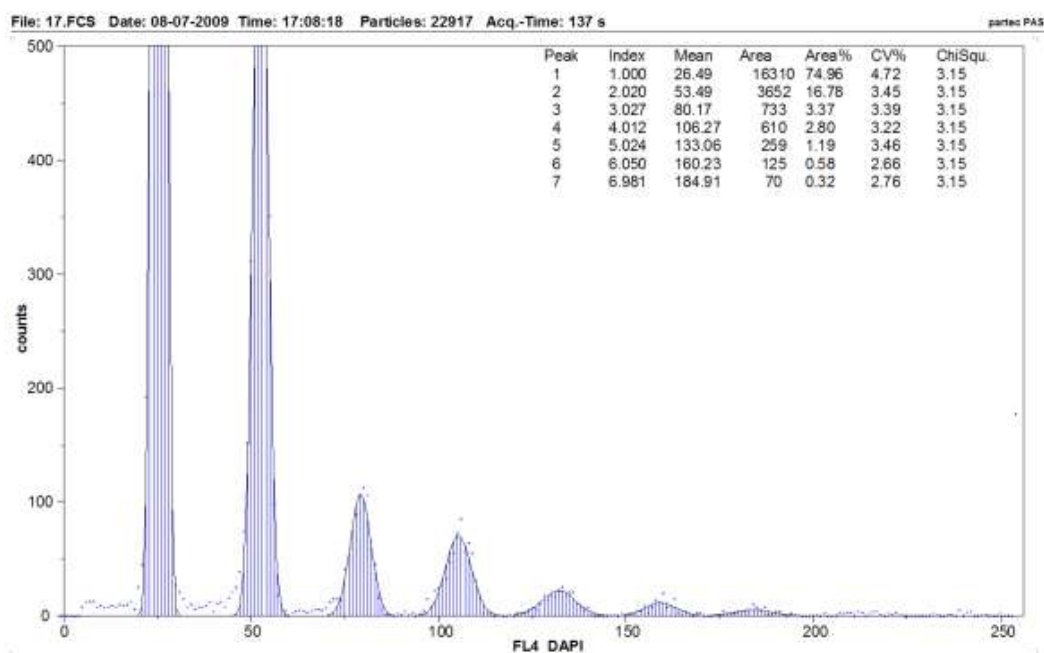


Рис.8.19. Розподіл ядер клітин печінки за класами плоідності статевонезрілого щура з ХТГ, який отримував артишоку екстракт.

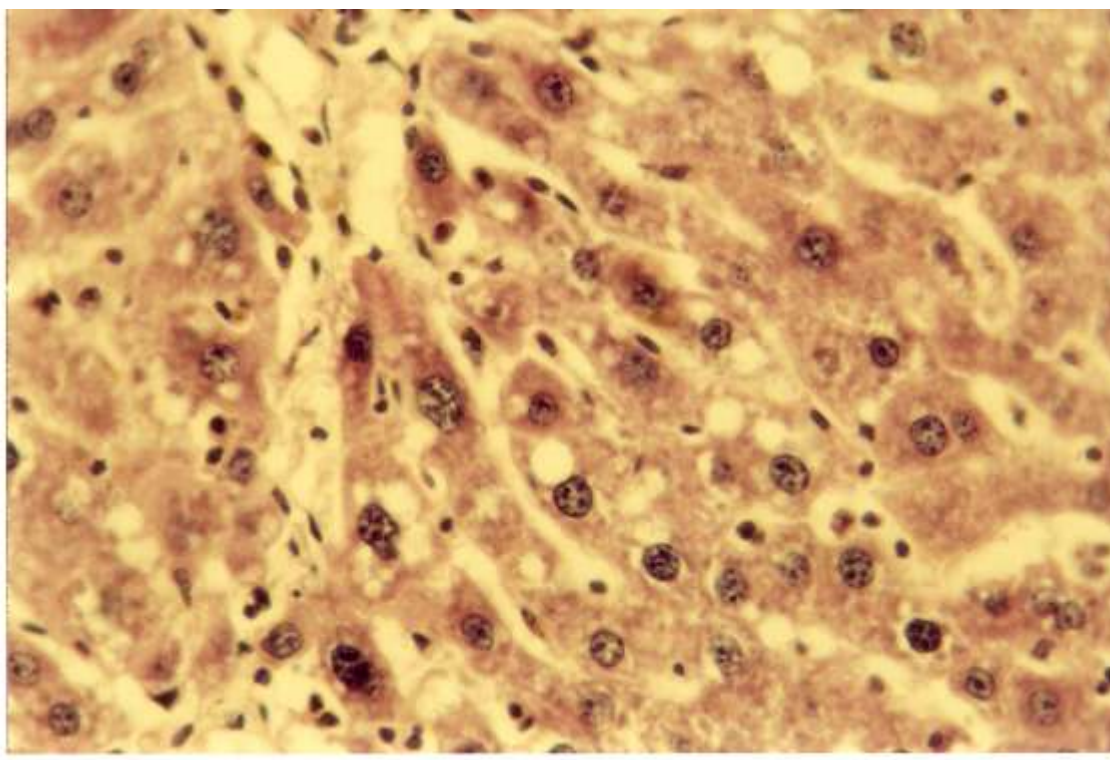


Рис.8.20. Значна кількість поліплоїдних ядер у дистрофічно змінених гепатоцитах, локалізованих навколо новоутворених сполучнотканинних септ у печінці піддослідної тварини з ХТГ, яку лікували введенням артишоку екстракт. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Розподіл плоїдності ДНК у піддослідних щурів є наступним : у нелікованих тварин із ХТГ відсоток 2с-гепатоцитів був меншим, що відображується на співвідношенні 2с/4с, яке знижується і становить 3,25 проти 4,28 у інтактних тварин (див. рис. 8.2). Цьому сприяє більший відсоток поліплоїдних ядер печінкових клітин у нелікованих тварин у 2,2 раза порівняно із контролем, що є нетиповим для статевонезрілих щурів. Зменшення співвідношення між кількістю диплоїдних та тетраплоїдних ядер свідчить про пригнічення регенерації ушкодженого органу за умов тривалого впливу гепатотоксинів на печінку статевонезрілих щурів. З одного боку, це може розглядатися як ознака передчасного старіння, виразного ушкодження та значної загибелі гепатоцитів, а з іншого – підвищення відсотку поліплоїдії є своєрідним захисним механізмом на дію тетрахлорметану та етанолу. Застосування гепатопротекторів з метою лікування ХТГ, індукованого вказаними гепатотоксинами, суттєво корегувало ці внутрішньоядерні зміни.

Так при застосуванні антралю, біциклол» та урсохолу відсоток ядер печінкових клітин з плоїдністю ДНК  $> 8с$  був близьким до контролю, тобто вказані гепатопротектори блокували розвиток патологічної, нетипової для статевонезрілих щурів, поліплоїдії паренхіматозних печінкових клітин, що засвідчує позитивний вплив даних гепатопротекторів.

Більшість препаратів, що досліджувалися (антраль, біциклол, глутаргін, дарсіл, есенціале, тіотриазолін, галстена), достовірно у порівнянні з нелікованими тваринами із ХТГ збільшують відсоток ядер клітин печінки із 2с набором ДНК, а при введенні глутаргіну, тіотриазоліну та антралю їх кількість перевищує таку у контролі, що є ознакою хорошої регенерації. Зокрема, при введенні антралю співвідношення 2с/4с дорівнювало 7,1, біциклолу – 6,32, глутаргіну – 6,95, дарсілу – 6,27, есенціале – 6,50, тіотриазоліну – 5,63 та галстени – 5,68, що майже удвічі перевищує аналогічний показник як у нелікованих, та у 1,5 раза – у інтактних щурів (див. рис. 8.2), та свідчить про активацію процесів проліферації 2с-гепатоцитів при застосуванні даних препаратів. А оскільки саме диплоїдні клітини активніше вступають у КЦ і

сприяють відновленню як маси, так і спеціалізованої функції ушкодженого органу, то такий результат дії гепатопротекторів є позитивним.

Застосування гепатопротекторів суттєво корегувало вказані внутрішньоядерні зміни. Посилена регенерація за рахунок проліферації 2с гепатоцитів при введенні препаратів антраль та біциклол підтверджувалась і при гістологічному дослідженні (рис. 8.21 та 8.22).

При підрахунку кореляційного зв'язку між окремими піддослідними групами за Спірменом було встановлено прямий достовірний зв'язок середньої сили ( $r=0,52$ ,  $p<0,001$ ) між показниками  $G_1$  % усіх піддослідних груп, обернений достовірний кореляційний зв'язок середньої сили ( $r= -0,51$ ,  $p<0,001$ ) між показниками  $G_2M$  % та  $PI$  ( $r= -0,52$ ,  $p<0,001$ ), прямий кореляційний зв'язок середньої сили ( $r=0,36$ ,  $p<0,01$ ) між показниками 2с %, обернений кореляційний зв'язок середньої сили ( $r=-0,40$ ,  $p<0,01$ ) між показниками 4с %. Отже, серед дев'яти показників, які досліджувалися, у п'яти із них був встановлений достовірний кореляційний зв'язок середньої сили, а саме фази КЦ  $G_1$  % та  $G_2M$  %,  $PI$ , 2с % та 4с %.

Проведений аналіз кореляційного зв'язку між окремими показниками плоїдності ДНК статевонезрілих щурів із ХТГ показав, що між 2с та 4с набором ДНК існує сильний обернений зв'язок ( $r=-0,93$ ,  $p<0,001$ ), між 2с і 8с – середньої сили обернений ( $r=-0,67$ ,  $p<0,001$ ), між 2с та >8с% ( $r=-0,61$ ,  $p<0,001$ ). Прямі середні за силою кореляційні зв'язки встановлені між 4с % та 8с % ( $r=0,53$ ,  $p<0,001$ ), 4с % та >8с % ( $r=0,43$ ,  $p<0,01$ ), а також 8с % та >8с % ( $r=0,53$ ,  $p<0,001$ ) набором хромосом в ДНК клітин печінки. Отже, дані кореляційні зв'язки дозволяють стверджувати, що посилення поліплоїдизації ядер гепатоцитів та зменшення відсотку ядер з 2с набором хромосом при дії гепатотоксинів створюють незадовільні умови для репаративної регенерації печінки статевонезрілих щурів. Введення гепатопротекторів збільшує відсоток диплоїдних та зменшує – поліплоїдних ядер печінкових клітин, тобто сприяє хорошій регенераторній проліферації гепатоцитів.

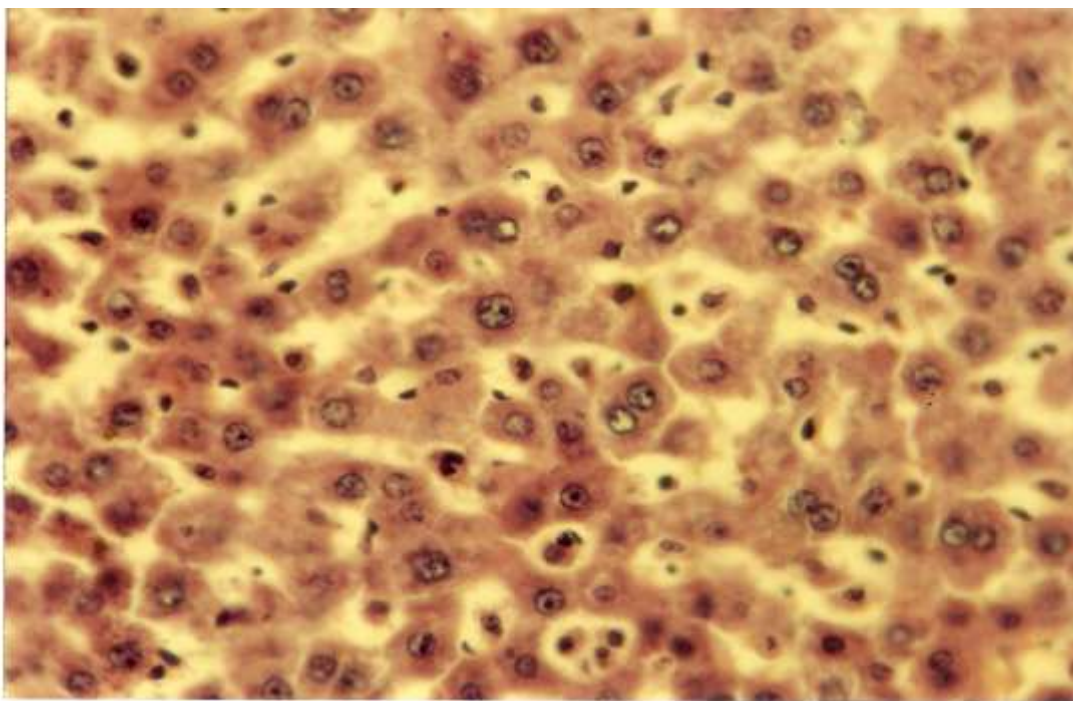


Рис. 8.21. Вогнище регенерації гепатоцитів, в якому багато двоядерних клітин з диплоїдним ядром (з одним ядерцем). Печінка щура з ХТГ, який отримував антраль. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

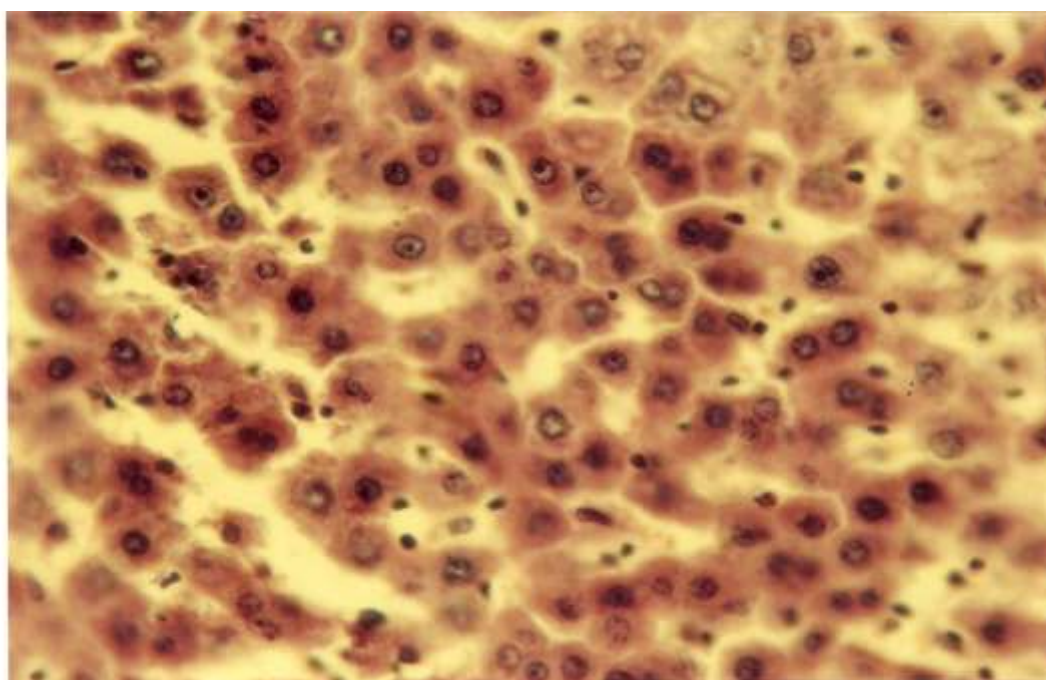


Рис. 8.22. Гепатоцити, у тому числі двояхдерні, мають невеликі ядра з одним ядерцем. Поодинокі поліплоїдні ядра великих розмірів. Печінка щура з ХТГ на тлі лікування біциклолом. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

При проведенні кореляційного аналізу між показниками, які вимірювалися МПЦ у ядрах печінкових клітин (фази КЦ, плоідність та фрагментація ДНК) та біохімічних параметрів у сироватці експериментальних тварин було встановлено ряд прямих та обернених кореляційних зв'язків.

Так у тварин контрольної групи був встановлений сильний прямий кореляційний зв'язок між інтервалом  $G_2M$  та кількістю альбуміну в сироватці крові ( $r=0,76$ ,  $p<0,05$ ), а також сильні обернені зв'язки між  $S$ -фазою та кількістю альбуміну у плазмі крові ( $r=-0,8$ ,  $p<0,05$ ). Це показувало, що при посиленні синтетичних процесів у ядрах гепатоцитів нормальної печінки ( $S$ -фаза), функціональна активність клітини у відношенні синтезу альбумінів зменшувалася, і, навпаки, посилювалась у постсинтетичній та премітотичній фазах  $G_2M$ . Також встановлено, що при збільшенні відсотку октаплоїдних ядер зменшувалась концентрація альбумінів у плазмі крові ( $r=-0,74$ ,  $p<0,05$ ), що свідчило про гірше виконання спеціалізованої функції клітин з поліплоїдними ядрами. Сильні обернені кореляційні зв'язки існували між відсотком  $2c$ -ядер та активністю АЛТ ( $r=-0,73$ ,  $p<0,05$ ),  $2c$  та активністю ЛФ ( $r=-0,75$ ,  $p<0,05$ ), що показувало негативний вплив даних ферментів на проліферацію диплоїдних гепатоцитів.

Зростання активності трансаміназ у сироватці крові експериментальних тварин із ХТГ прямо корелює з фрагментацією ДНК ( $r=0,66$ ,  $p<0,01$  для АСТ),  $S$ -фазою ( $r=0,24$ ,  $p=0,065$  для АСТ), поліплоїдизацією ДНК ядер гепатоцитів ( $r=0,34$ ,  $p<0,05$  для АСТ,  $r=0,27$ ,  $p=0,063$  для АЛТ). Тобто, виразність синдрому цитолізу, основним біохімічним маркером якого є підвищення активності АЛТ і АСТ, зростає паралельно із посиленням патогенно індукованого апоптозу, свідченням якого є зростання фрагментації ДНК ядер гепатоцитів, кінцевою стадією якого є каріолізис та цитоліз. Ці процеси відбуваються паралельно із посиленням синтезу ДНК у ядрі, як компенсаторно-приспосувальною реакцією у відповідь на альтерацію, а також із збільшенням наборів ДНК  $>8c$ . Крім того, як згадувалося вище, між показником фрагментації ДНК та  $S$ -фазою також існує прямий кореляційний зв'язок. Це доводить наші висновки щодо



посилення поліплоїдизації у відповідь на дію гепатотоксинів на печінку статевонезрілих щурів, як одного із варіантів репаративної регенерації гепатоцитів у відповідь на посилення їх руйнування, тобто, цитолізу.

Збільшення плоідності набору ДНК  $>8c$  у ядрах гепатоцитів нелікованих тварин із ХТГ знаходиться у прямому кореляційному зв'язку із активністю ГГТП ( $r=0,87$ ,  $p=0,054$ ), що є біохімічним індикатором синдромів цитолізу та холестазу. Тобто, посилення даних процесів у патологічно зміненій печінці прямо взаємопов'язано із патологічною поліплоїдизацією ядер гепатоцитів на тлі введення гепатотоксинів.

Індекс проліферації обернено корелює з кількістю загального білку ( $r=-0,77$ ,  $p<0,05$ ) та активністю АЛТ ( $r=-0,78$ ,  $p<0,05$ ) у нелікованих тварин групи порівняння. Тобто збільшення виразності ЦС, свідченням чого є зростання активності АЛТ, зменшує РІ гепатоцитів. У свою чергу, зменшення останнього характеризується посиленням синтезу глобулінів у печінці і підтверджується наявністю МЗС. Обернений зв'язок між показником  $2c$  % та активністю АСТ ( $r=-0,9$ ,  $p<0,05$ ) паралельно з наявністю прямої кореляції між відсотком тетра- та октаплоїдних ядер з активністю АСТ ( $r=0,9$ ,  $p<0,05$ ), тобто при збільшенні активності трансаміназ зменшується відсоток гепатоцитів з диплоїдними ядрами, що може бути спричинене руйнуванням високочутливих до дії гепатотоксинів  $2c$ -гепатоцитів, та обумовленою цим гіперферментемією, а також збільшення відсотку гепатоцитів з поліплоїдними ядрами, які є більш стійкими до ушкоджуючих факторів.

Встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок між фрагментацією ДНК та кількістю прямого білірубіну ( $r=0,75$ ,  $p=0,052$ ) у нелікованих тварин. Існування даного зв'язку, на нашу думку, з одного боку, може пояснюватись токсичною дією прямого білірубіну на клітину, що спричиняє апоптоз, а з другого боку – збільшення кількості першого може бути наслідком загибелі великої кількості гепатоцитів при наявності синдрому холестазу.

Збільшення рівня МДА на тлі активації ПОЛ, спричиненої введенням гепатотоксинів, у тварин, які з лікувальною метою тіотриазоліну, призвело до

зменшення інтервалу  $G_2M$  ( $r=-0,83$ ,  $p<0,04$ ) та  $PI$  ( $r=-0,77$ ,  $p=0,07$ ), що засвідчує антипроліферативний ефект у даного кінцевого продукту ПОЛ.

Збільшення рівня МДА у сироватці крові тварин, які отримували з лікувальною метою біциклол, призвело до збільшення відсотку  $8c$  ядер ( $r=0,95$ ,  $p<0,051$ ), що доводить вплив процесів ПОЛ на активацію поліплоїдизації.

При введенні експериментальним тваринам урсохолу зменшення рівня прямого білірубіну ( $r=0,9$ ,  $p<0,05$ ), активності АЛТ ( $r=0,9$ ,  $p<0,05$ ) та ГГТП ( $r=0,97$ ,  $p<0,01$ ) призвело до збільшення відсотку ядер, які знаходились в пресинтетичній фазі, оскільки були зареєстровані сильні прямі кореляційні зв'язки між даними показниками. Також відсоток ядер у  $S$ -фазі корелював із вмістом загального білірубіну ( $r=0,9$ ,  $p<0,04$ ), що засвідчує посилення проліферативного потенціалу клітин печінки при застосуванні з лікувальною метою даного гепатопротектору.

Таким чином, результати досліджень, отриманих за допомогою МПЦ, показали, що усі досліджувані гепатопротектори більшою чи меншою мірою впливають на показники фаз КЦ, фрагментацію та плоїдність набору ДНК ядер клітин печінки.

Зокрема, введення статевонезрілим щурам із ХТГ вітчизняного синтетичного гепатопротектору антраль у якості патогенетичної терапії при даній патології призвело до збільшення кількості ядер печінкових клітин у фазі, яка передуює синтезу ДНК ( $G_0-G_1$ ) на 20,74 %, збільшення кількості ядер з  $2c$  набором хромосом на 18,83 % ( $p<0,05$ ). Встановлено також менший відсоток  $4c$  ядер удвічі у порівнянні з нелікованими тваринами ( $p<0,05$ ). Збільшення відсотку диплоїдних ядер клітин печінки, які перебувають у пресинтетичній фазі КЦ, на нашу думку, є позитивним ефектом даного препарату, оскільки саме гепатоцити з ядрами, що містять набір хромосом  $2c$  мають найвищий потенціал до поділу, і, відповідно, до регенерації ушкодженого органу. Факт активної проліферації гепатоцитів з диплоїдним ядром підтверджується і гістологічним дослідженням тканини печінки тварин даної піддослідної групи (див. рис. 8.21).



Препарат біциклол аналогічно антралю суттєво вплинув як на показники КЦ, так і на плоїдність ДНК. Свідченням цього був достовірно більший відсоток ядер печінкових клітин у фазі  $G_0-G_1$  на 17,01 %, відсоток 2с ядер – на 15,7 %. Паралельно спостерігався менший відсоток ядер у фазі  $G_2M$  на 50 %, відсоток 4с-гепатоцитів – на 40,43 %, зменшення PI – у 2 рази. На 15,8 % блокувалась фрагментація ДНК у порівнянні з нелікованими тваринами. Відсоток ядер, які перебувають у S-фазі КЦ був у 1,8 раза більшим порівняно з контрольною групою. На основі отриманих даних МПЦ можна передбачити, що синтетичний гепатопротектор, створений на основі шизадрину – біциклол, найбільш інтенсивно впливає на процеси синтезу ДНК у ядрах печінкових клітин, оскільки він найбільш інтенсивно активує фазу синтезу ДНК у порівнянні з іншими гепатопротекторами. Тобто даний препарат чинить різнобічний позитивний вплив на показники КЦ, які досліджувалися. Біциклол, як і антраль, посилює регенерацію печінки за рахунок збільшення відсотку ядер з диплоїдним набором хромосом, що поєднувалось із паралельним зменшенням патологічно індукований апоптозу, що також підтверджувалось гістологічно. Так серед гепатоцитів, ядра яких мають одне ядерце, трапляються двоядерні, теж з одним ядерцем, рідко - поліплоїдні ядра з двома і більше ядерцями, тому і поліморфізм гепатоцитів помірний (рис. 8.22).

При застосуванні глутаргіну, есенціале та урсохолу спостерігалась подібна тенденція. Дані препарати помірно впливають на показники КЦ, тобто мають «м'яку дію». При введенні експериментальним тваринам із ХТГ препарату есенціале рівень патологічно індукованого апоптозу був зменшений на 21,6 %, при лікуванні гепатопротектором урсохол – лише на 15,6 %. Особливостями впливу есенціале на клітинні механізми репаративної регенерації гепатоцитів є посилення поліплоїдизація ядер гепатоцитів на тлі помірної здатності до посилення проліферації диплоїдних гепатоцитів.

Із негативних ефектів глутаргіну слід відмітити, що при застосуванні даного препарату фрагментація ДНК була збільшеною на 30,8 %.

При лікуванні ХТГ у статевонезрілих щурів шляхом введення рослинного препарату на основі розторопші плямистої дарсіл серед позитивних ефектів слід відмітити значне зростання співвідношення  $2c/4c$ , а також достовірне зменшення відсотку поліплоїдних клітин, зокрема показник  $>8c$  у тварин даної групи був найменшим. Отже, дарсіл чинить позитивний вплив на окремі показники, що досліджувалися МПЦ, зокрема посилює регенераційні процеси у печінці та сприяє деполіплоїдизації (рис. 8.23). Проте зменшення фрагментації ДНК відбувалось лише на 9,6 % у порівнянні з нелікованими тваринами і не носило достовірної різниці.

При введенні піддослідним тваринам з ХТГ вітчизняного синтетичного гепатопротектору тіотриазолін реєстрували достовірно більшу кількість диплоїдних ядер печінкових клітин на 21,8 %. Препарат посилює синтетичні процеси, оскільки збільшує відсоток ядер, які перебувають у S-фазі (у 1,4 раза більше, ніж у контролі). Наведений факт може вказувати на високу здатність тіотриазоліну впливати на проліферативні регенераторні процеси у печінці. Із негативних ефектів даного препарату слід відмітити, що він не зменшує рівень патогенно індукованого апоптозу (див. табл. 8.1).

Найкращий позитивний ефект гомеопатичного препарату галстена зареєстровано у відношенні зменшення величини апоптозу, оскільки він достовірно зменшував фрагментацію ДНК на 35,3%. Також до його позитивних впливів на показники ДНК слід віднести збільшення відсотку  $2c$  ядер, зменшення –  $4c$  та  $>8c$ , а також зростання співвідношення  $2c/4c$ , що засвідчує активацію репаративної регенерації гепатоцитів. Проте, що стосується впливу даного препарату на інші показники КЦ, то із негативних ефектів слід відмітити пригнічення фази синтезу ДНК, оскільки відсоток ядер, які перебували у даній фазі при його застосуванні виявився найнижчим (див. табл. 8.1).

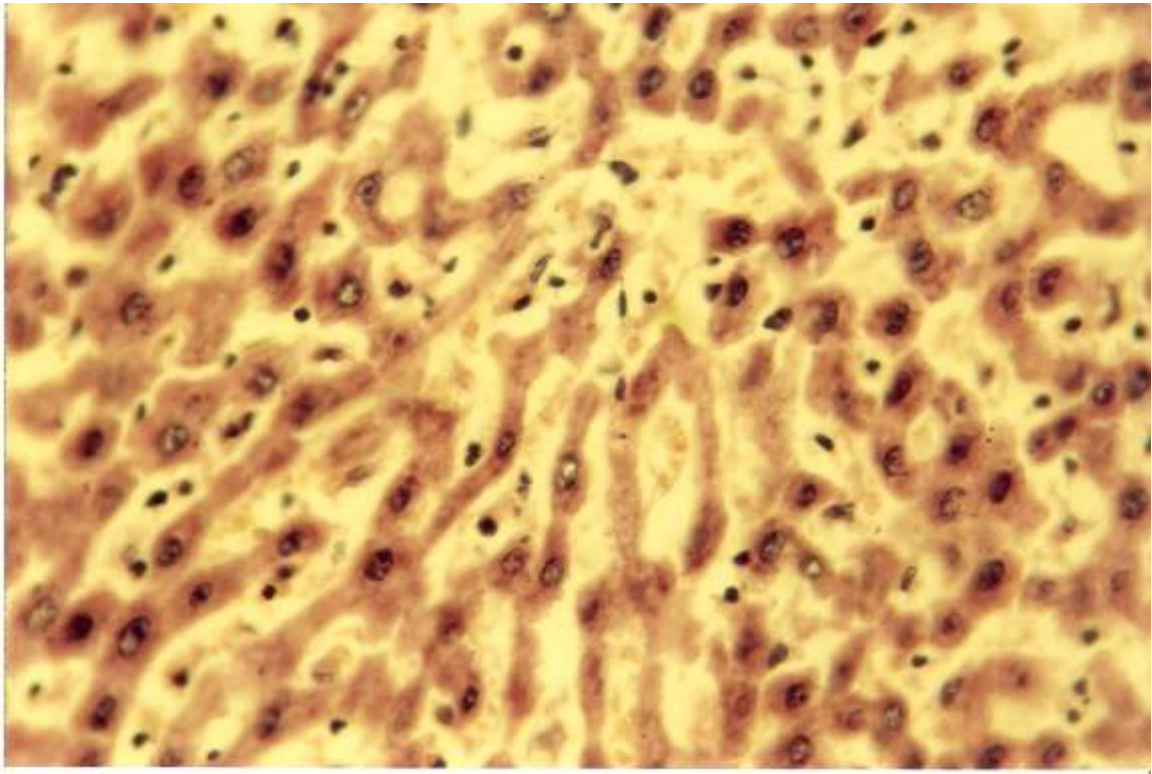


Рис. 8.23. Вогнищева атрофія із внутрішньоклітинною регенерацією гепатоцитів з помірною регенерацією, підтверджена відсутністю дистрофічних змін при введенні дарсілу статевонезрілому щуру із моделлю ХТГ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

На тлі введення піддослідним тваринам артишоку екстракт паралельно із гепатотоксинами серед позитивних його ефектів слід відмітити достовірне зменшення субдиплоїдного інтервалу RN на 44,5 %, що вказує на значне зменшення фрагментації ДНК, а, отже, апоптозу клітин печінки у даній групі дослідів. Також особливістю впливу даного рослинного гепатопротектору на клітинні механізми репаративної регенерації гепатоцитів є поліплоїдизація ядер та активація регенеративної гіпертрофії клітин на тлі низької здатності до посилення проліферації гепатоцитів.

## Резюме

Таким чином, результати експериментальних досліджень, отриманих за допомогою МПЦ, показали, що усі досліджувані гепатопротектори неоднаково впливають на клітинні механізми репаративної регенерації гепатоцитів. Виходячи з результатів проведених досліджень, при виборі гепатопротектора необхідно враховувати у кожному конкретному випадку ступінь ушкодження, стан репаративної регенерації, переважання процесів регенераторної гіпертрофії чи проліферації в ушкодженій печінці, а також рівень апоптозу.

Установлено, що синтетичний гепатопротектор біциклол, а також вітчизняні синтетичні препарати антраль та тіотриазолін володіють фармакологічним ефектом, який полягає в підсиленні синтезу ядерної ДНК, що, у свою чергу, на клітинному рівні, значно підсилює їх потенціал до проліферації, тобто, до регенерації. При потребі посилення процесів репаративної проліферації з метою активації процесів відновлення маси органа можна рекомендувати дані препарати. При потребі тривалого призначення гепатопротекторів слід застосовувати препарати з «м'якою» дією, зокрема ессенціале, урсохол, дарсіл, які помірно впливають на КЦ гепатоцитів, незначно посилюють синтетичні та мітотичні процеси в ядрах гепатоцитів, що необхідно для попередження неконтрольованого збільшення маси органу.

Доведено, що поліплоїдія є характерною ознакою популяції гепатоцитів, виділених із патологічно зміненої, ураженої гепатотоксинами (CCl<sub>4</sub> у поєднанні з етанолом) печінки статевонезрілих щурів, на яку можна впливати, застосовуючи в якості лікування такі гепатопротектори, як дарсіл, глутаргін, тіотриазолін, антраль, урсохол, бциклол, галстена. Зменшення фрагментації ДНК відбувається при застосуванні артишоку та галстена теж є позитивним лікувальним ефектом, але зумовленим іншим механізмом дії.

Результати даного розділу опубліковано у працях : [120–122, 190].

## РОЗДІЛ 9

## **МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЙОГО ЛІКУВАННІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРАМИ**

У даному розділі наведені результати досліджень ефективності гепатопротекторів у порівняльному аспекті, отриманих внаслідок проведення II (лікувально-профілактичний режим введення) та III (лікувальний режим введення з метою антифіброзної терапії) серії експериментів у статевонезрілих щурів з моделлю ХТГ.

### **9.1. Патоморфологія хронічного токсичного гепатиту у нелікованих щурів**

**9.1.1. Група порівняння II серії експерименту.** Адекватність моделі ХТГ у нелікованих статевонезрілих щурів другої серії експерименту, яким вводили гепатотоксини протягом шести тижнів, підтверджувалась результатами гістологічного дослідження печінки експериментальних тварин, які підлягали евтаназії після закінчення терміну моделювання. Необхідно підкреслити, що у всіх експериментальних тварин гістологічно виявлені виразні морфологічні доказові ознаки ХТГ. Такими були надзвичайно глибокі зміни альтеративного, ексудативного та проліферативного характеру, але у кожній окремо взятої експериментальної тварини співвідношення вказаних ознак не були абсолютно ідентичними.

Так при оглядовому гістологічному дослідженні (при збільшенні на 100) звертали увагу поширені вогнища некрозу, локалізовані як перипортально, так і всередині часточок. Портальні шляхи розширені внаслідок значного набряку та «східчастого» некрозу, які порушували пограничну пластинку, межа якої була нечітка. Паренхіма часточок фрагментована «порожніми» септами (синусоїдами з досить широким просвітом та розширеними просвітами Діссе, заповненими прозорою рідиною).

Вогнища некрозу з особливо виразним набряком мали мультилобулярний характер і супроводжувалися формуванням псевдочасточок, характерних для постнекротичного ЦП (рис. 9.1).

Оскільки експериментальні тварини разом з  $CCl_4$  отримували ще й етанол, то у них часто розвивалась жирова дистрофія печінки, у поєднанні з гідропічною. Жирова дистрофія завжди мала осередковий характер, була переважно дрібновакуольною, і рідко – крупновакуольною, і зустрічалась не в усіх тварин. На відміну від гідропічної жирова дистрофія не впливала на архітектоніку часточок та балкову орієнтацію гепатоцитів, якщо не враховувати деяке розширення просвіту синусоїдів набряковою рідиною та поживлення проліферації клітин Купфера, якими вона супроводжувалась. Представляється можливим констатувати, що жирова дистрофія відіграє меншу роль у прогресуванні ХТГ у порівнянні з гідропічною. Жирова та гідропічна дистрофії гепатоцитів призводили до великих вогнищ некрозу та запальної інфільтрації переважно мононуклеарами (рис. 9.2). Некродистрофічні зміни підтверджувались значним зниженням активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) при обробці заморожених зрізів печінки за Нахласом (рис. 9.3).

Поширені набряки з дезінтеграцією та некрозом гепатоцитів перипортальних зон і запальною інфільтрацією ефекторними клітинами портальних шляхів поєднувались із скупченням лімфоцитів та макрофагів всередині часточок, які адгезують до дистрофічно і некротично змінених гепатоцитів, що може засвідчити ознаки кілінгу (імунного цитолізу) (рис. 9.4), і, безумовно, є серйозними предикторами розвитку фіброзу і ЦП. Це підтверджується паралельним збільшенням кількості колагенових волокон у портальних шляхах та перипортальних ділянках часточок, що краще помітно при зафарбовуванні зрізів за ван Гізон. Що стосується аргірофільних волокон, то вони в таких ділянках фрагментуються, підлягають лізису, або фрагментарно потовщуються і заміщуються колагеновими, що найкраще видно при посрібленні зрізів азотнокислим сріблом за Гоморі. Процес диференціювання стромальних клітин Купфера у міофіброласти зазвичай супроводжувався

капіляризацією синусоїдів, появою в їх стінці ретикулярних волокон, що краще виявлялось при посрібленні за Гоморі (рис. 9.5).

Незважаючи на велику ширину та глибину дистрофічних та некротичних змін паралельно трапляються ознаки не індукованої гепатопротекторами регенерації, які полягають у появі серед дистрофічно і некротично змінених гепатоцитів двохядерних та великих гепатоцитів з поліплоїдними великих розмірів ядрами, що свідчить про їх поліплоїдизацію та регенераційну гіпертрофію (рис. 9.6).

В окремих тварин, не зважаючи на те, що пройшло шість тижнів від початку моделювання ХТГ, гістологічно виявлялись ознаки особливо виразного набряку. Портальні шляхи, перисинусоїдальні простори Діссе та просвіти синусоїдів були значно розширені рідиною з утворенням лакун. В рідині визначались поодинокі лімфоцити, набряклі десквамовані клітини строми (клітини Купфера, Іто, ендотеліоцити), а місцями, особливо в портальних шляхах, дифузні скупчення численних поліморфноядерних лейкоцитів. Звертала увагу прозорість та чітка структуризація елементів позаклітинного матриксу. Фарбування за Ван Гізон в таких місцях не виявляла колагенових волокон всередині часточок.

Про розвиток внутрішньочасточкового лімфостазу свідчило збільшення кількості лімфатичних щілин, судин, як в портальних шляхах, так і всередині часточок, де вони мали вигляд «порожніх» септ – широких, але з невеликою кількістю колагенових волокон та продукуючих їх клітин, навіть з порушенням архітектоніки часточок. Місцями балки гепатоцитів набували ознак атрофії від стискання. Гепатоцити зменшувались в об'ємі, замість кубічної набували видовженої форми, ядра ставали овальними.



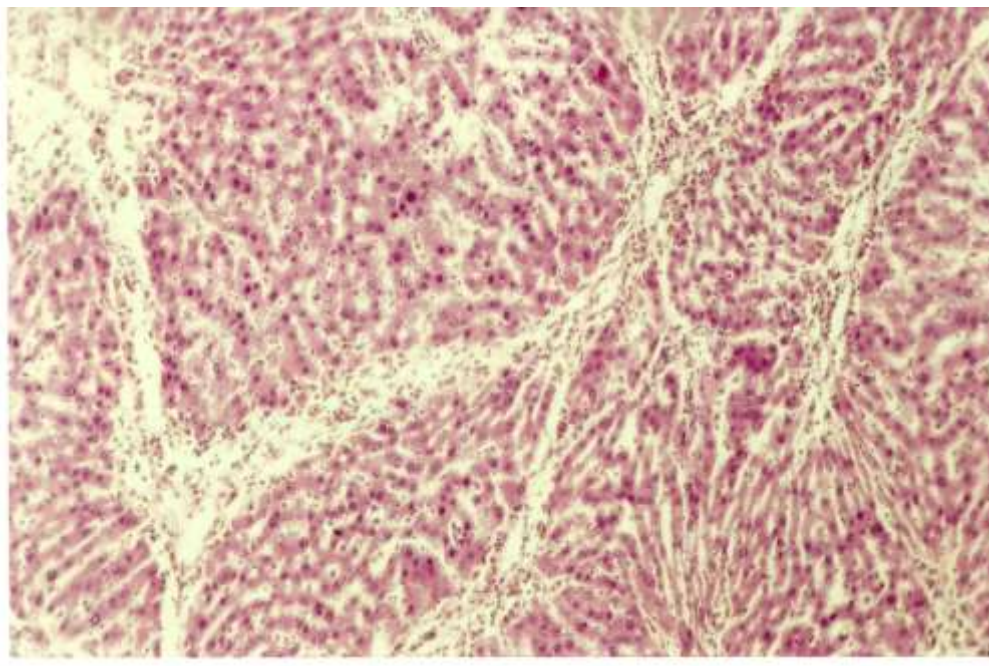


Рис. 9.1. Значний набряк портальних шляхів з розвитком лімфангіектазій та цирозу печінки. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

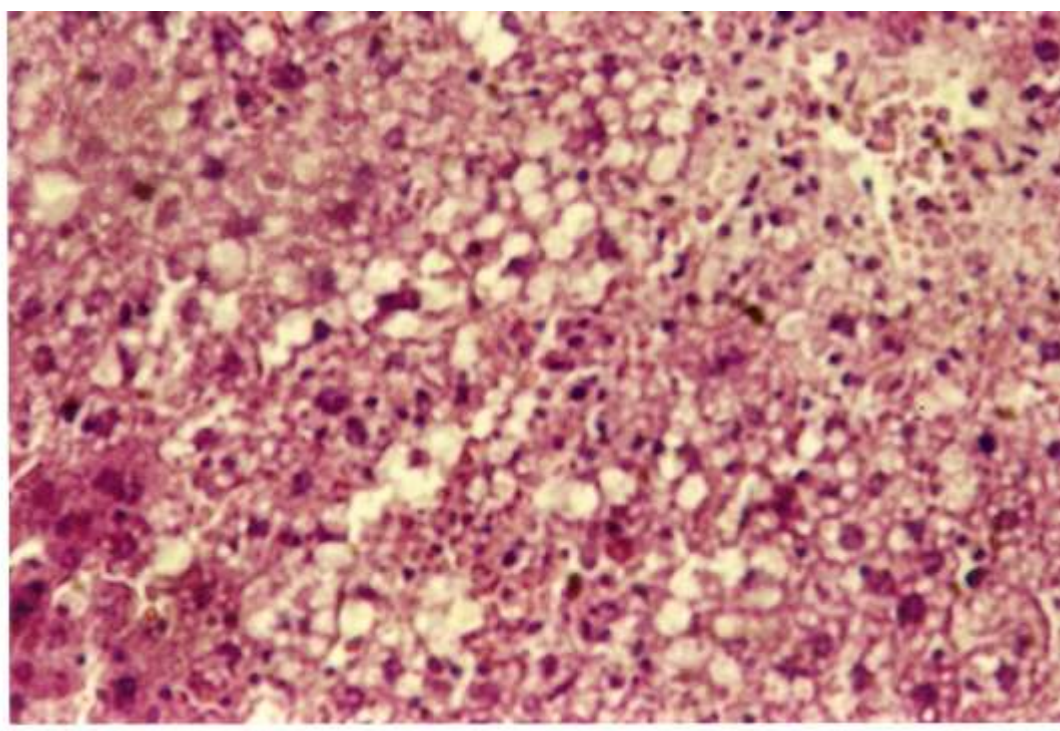


Рис. 9.2. Жирова та гідропічна дистрофія з розвитком некрозу гепатоцитів. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.



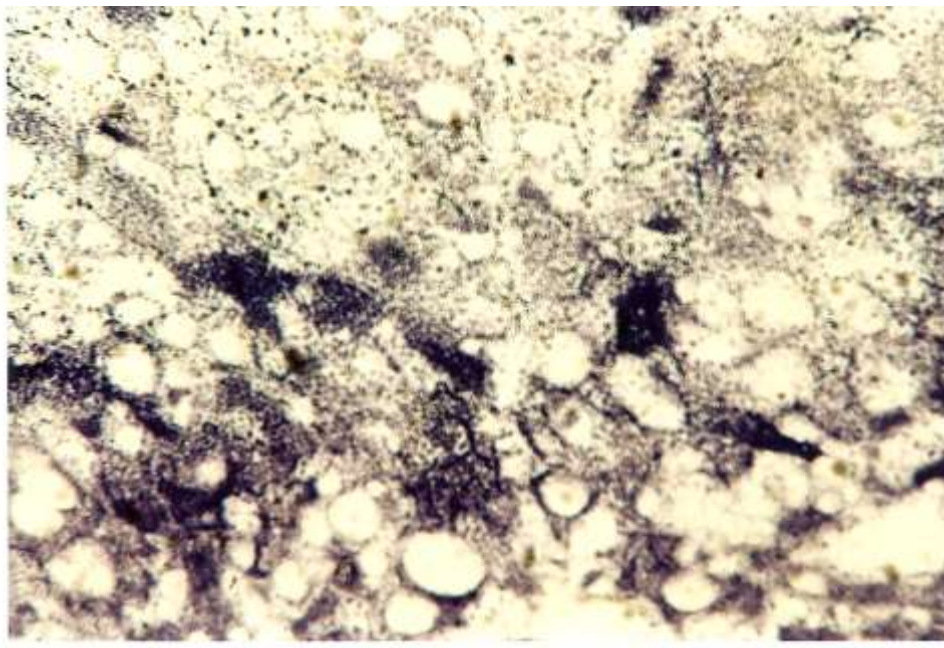


Рис. 9.3. Значне зниження активності СДГ на тлі жирової дистрофії гепатоцитів. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Обробка зрізів за Нахласом x 400.

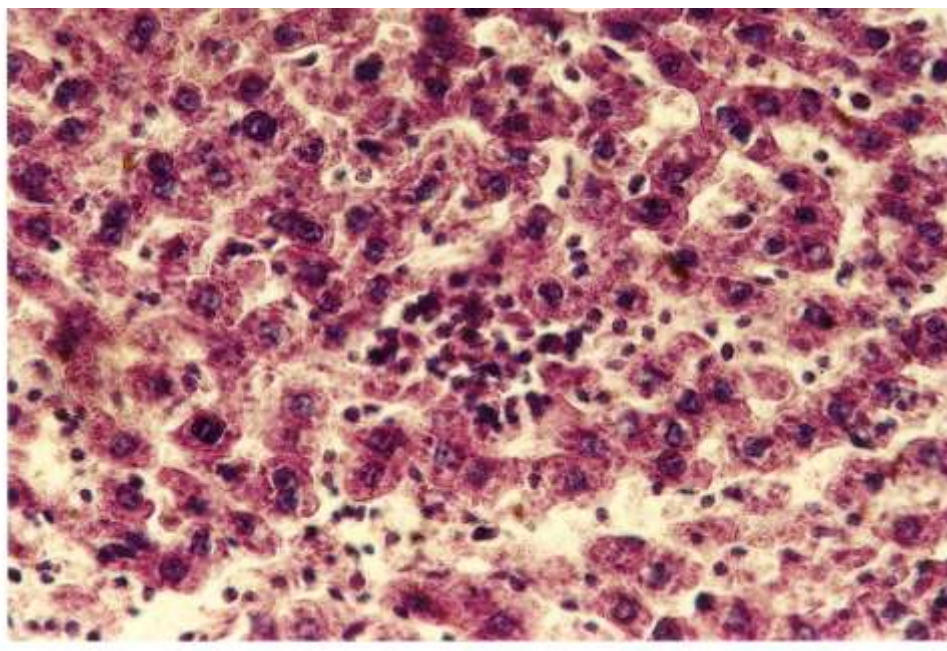


Рис. 9.4. Адгезія високоактивних макрофагів та лімфоцитів до дистрофічно змінених гепатоцитів (імунний кілінг) на тлі зернистої дистрофії гепатоцитів та розвитку «порожніх» сполучнотканинних септ. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

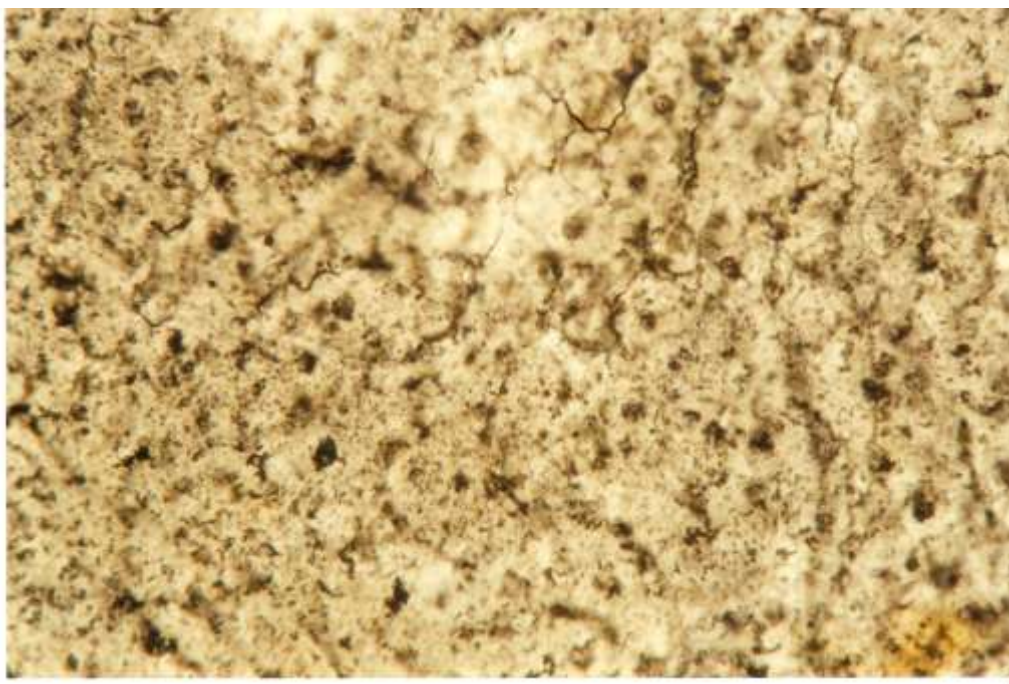


Рис. 9.5. Фрагментація та лізис аргірофільних волокон. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Посріблення за Гоморі. х 400.

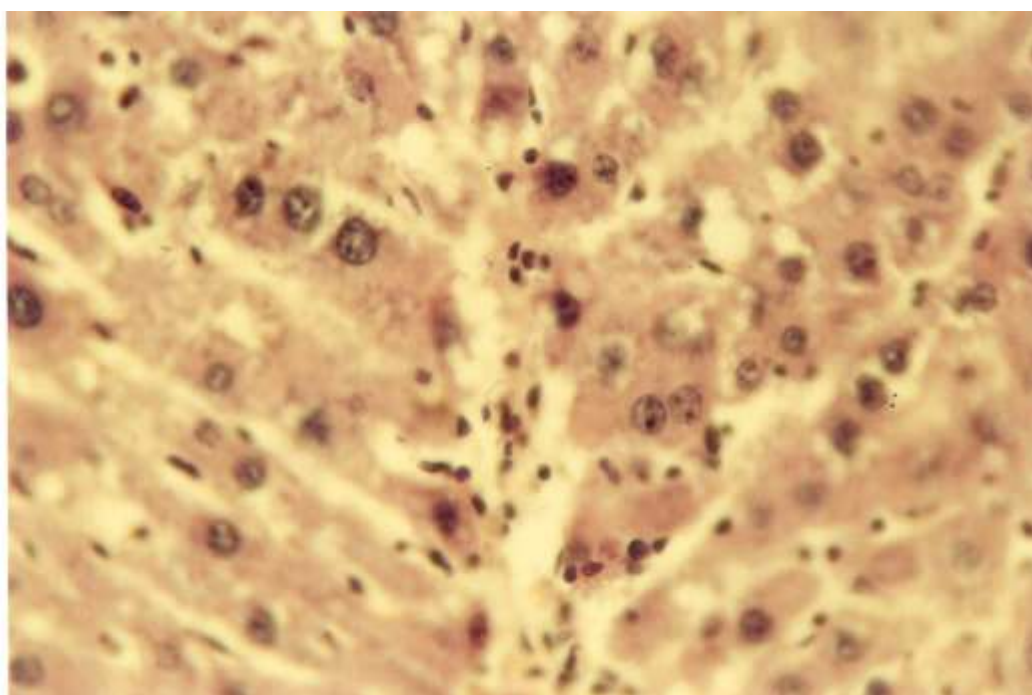


Рис. 9.6. набряк з ушкодженням цілісності пограничної пластинки. Анізоцитоз та анізонуклеоз гепатоцитів перипортальних зон часточок. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Зabarвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Подекуди у розширених просвітах синусоїдів визначались набухлі клітини Купфера, ендотеліоцити, скупчення та ланцюжки лімфоцитів, макрофагів, поява колагенових волокон. Іноді набряк портальних шляхів стимулює склероз і порушення пограничної пластинки з дезінтеграцією гепатоцитів у перипортальних зонах часточок. Спостерігалися усі етапи лімфостазу, від збільшення кількості функціонуючих лімфатичних судин за рахунок підключення резервних та утворення нових до розвитку лімфангіектазій.

У просвіті розширених лімфатичних судин зустрічались поодинокі еритроцити, що свідчить про особливо велику проникливість їх стінки і можливу зміну біохімічного складу лімфи з негативним впливом на її функцію, як середовища, в якому відбуваються міжклітинні взаємовідношення метаболічного, регуляторного та елімінативного характеру. На наш погляд, виявлені зміни лімфообігу в печінці експериментальних тварин за патогенезом мають комбінований генез і обумовлені як механічними, так і динамічними та резорбтивними факторами. Сприятливим фоном для їх розвитку може слугувати вікова незрілість організму, у тому числі і печінки, статевонезрілих щурів.

Що стосується гепатоцитів, то в ділянках значного набряку строми вони в основному зберігали балкову орієнтацію. Контури клітин чітко обмежені. В цитоплазмі ознаки виразної жирової та помірної гідропічної дистрофії. Гепатоцити місцями набували видовженої форми, що свідчить про їх стискання надмірним накопиченням рідини (рис. 9.7).

У більшості нелікованих статевонезрілих щурів накопичення прозорої рідини (лімфи) в синусоїдах та лімфатичних судинах з утворенням лакун спостерігалось рідко і носило вогнищевий характер. Навколишні балки гепатоцитів, окрім білкової і жирової дистрофії, мали ознаки атрофії, колапсу та спонтанної регенерації, яка проявлялась збільшенням кількості двохядерних гепатоцитів та гіпертрофією значної кількості паренхіматозних клітин. Позаклітинний матрикс був ущільненим.



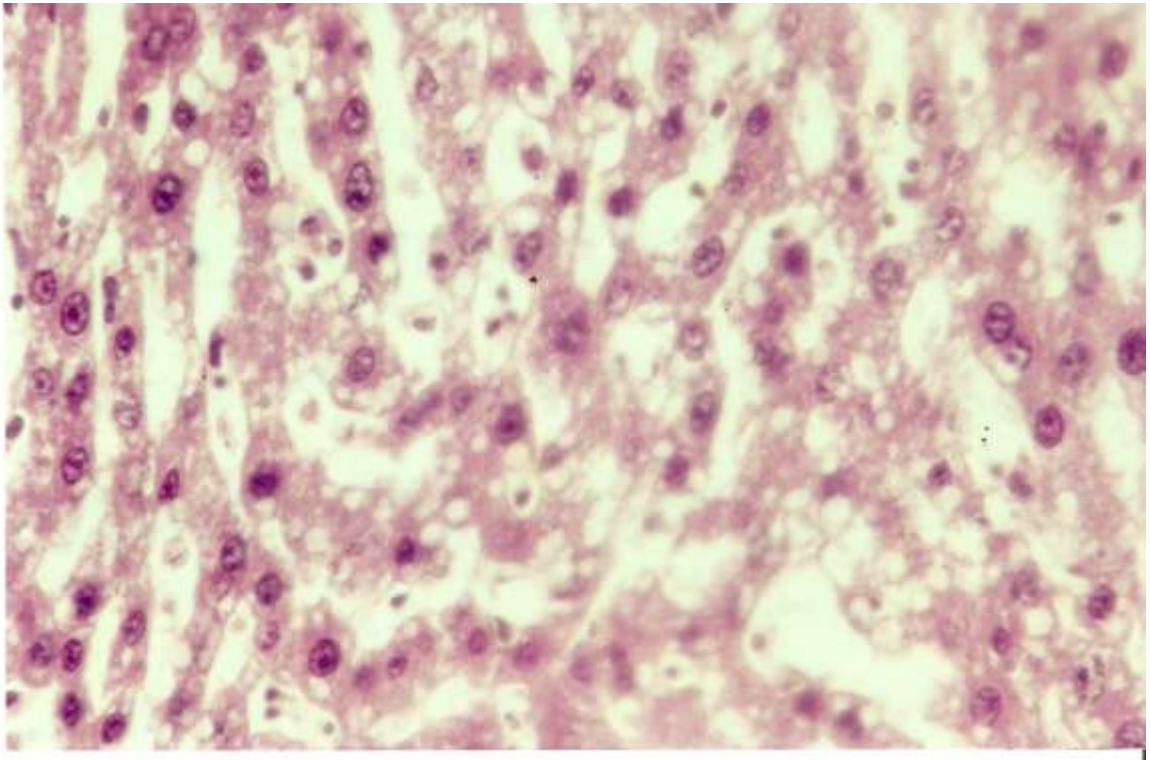


Рис. 9.7. Значний набряк строми. Жирова дистрофія та атрофія гепатоцитів. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Поряд зі значним некрозом та нерівномірними і непостійними змінами, зумовленими порушенням динаміки тканинної рідини всередині часточок зустрічались зміни структури кровоносних судин та жовчних проток порталних шляхів. У великих гілках ворітної вени виявлялись стаз та нерівномірний розподіл плазми і формених елементів, що свідчить про дистонію стінки, а в прилеглих жовчних протоках – ознаки холестазу (рис. 9.8). Всередині часточок органу, що досліджувався, на тлі неглибокої монотонної білкової дистрофії та помірного розширення просвіту синусоїдів з набряканням стромальних клітин у частини тварин спостерігався холестаз у жовчних капілярах (рис. 9.9).

Глибокі дистрофічні та некротичні прояви токсичного впливу  $CCl_4$  та етанолу часто поєднувались із розвитком запалення в центральних венах. У їх просвіті визначались скупчення нейтрофільних лейкоцитів (рис. 9.10).

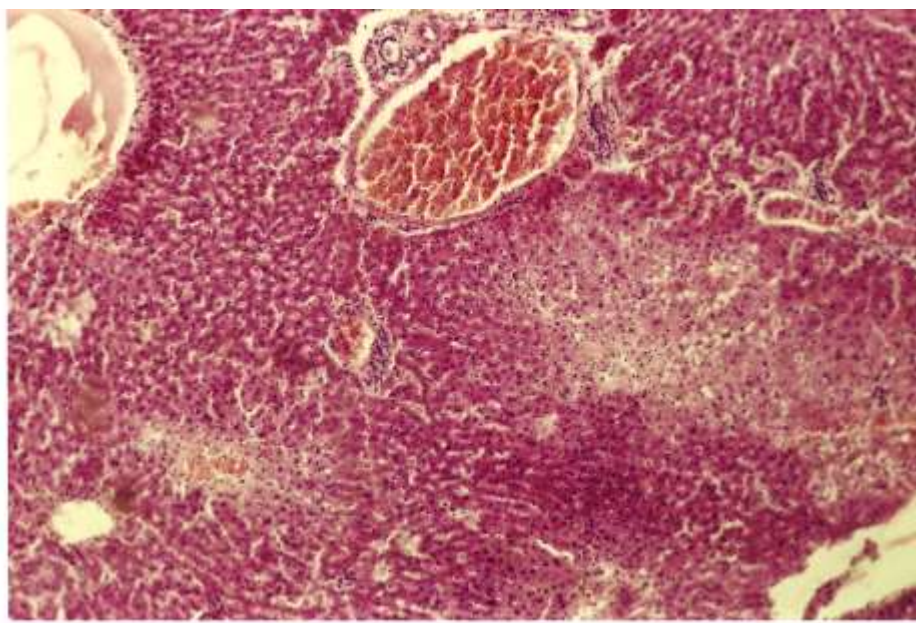


Рис. 9.8. Розширення просвіту центральних вен кров'ю з ознаками стазу та нерівномірного розподілу плазми та формених елементів крові на тлі дистрофії та великих вогнищ некрозу гепатоцитів. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Зabarвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

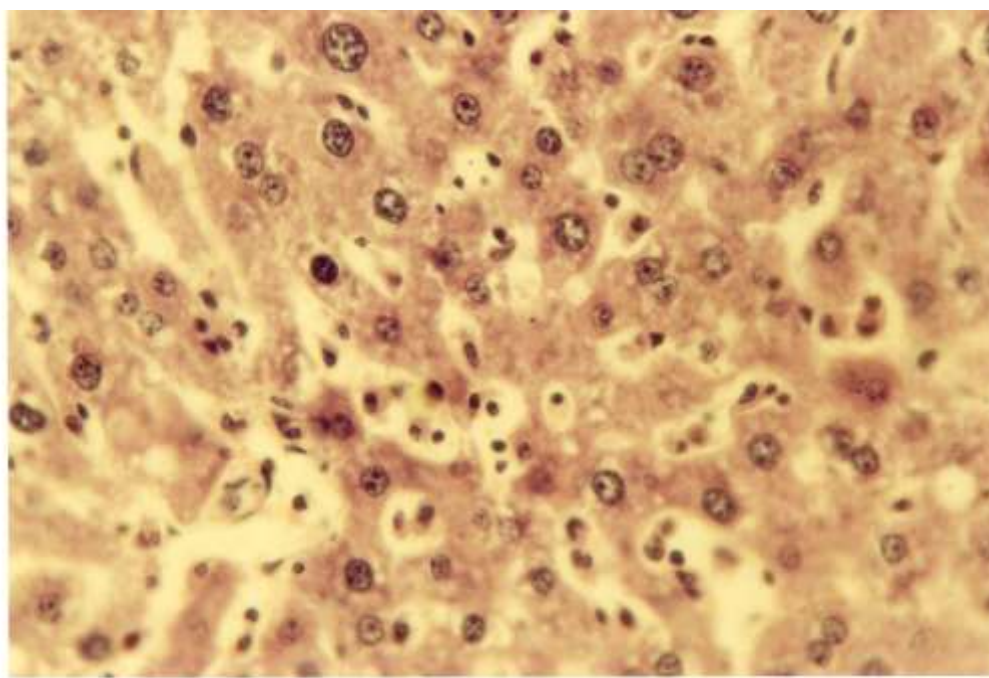


Рис. 9.9. Анізоцитоз та анізонуклеоз гепатоцитів на тлі холестазу та набрякання клітин Купфера. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Зabarвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

В інтимі центральних вен траплялись субендотеліальний набряк та скупчення гомогенних депозитів рожевого кольору та клітинних елементів: лімфоцитів, макрофагів, нейтрофілів. Іноді інтима виглядала значно потовщеною внаслідок склерозу та запальної інфільтрації. В дрібних кровоносних судинах траплялись і тромби (рис. 9.11). Необхідно підкреслити, що вказані патологічні зміни в судинах розвивались на тлі значних альтеративних змін в паренхімі печінки: глибокої білкової і жирової дистрофії та некрозу, а також апоптозу.

Репараційні процеси проявлялись у проліферації клітин Купфера. Кількість їх збільшувалась у вигляді дифузної та вогнищевої інфільтрації у просвіті синусоїдів. Вони мали вигляд фіксованих до стінки синусоїдів набряклих клітин з круглим ядром, чи десквамованих вільно розміщених у просвіті синусоїда в якості макрофагів, або диференційованих у міофібробласти, коли набували видовженої форми.

Що стосується порталних шляхів, то предикторами фіброзу, крім запальних інфільтратів, набряку, васкулітів, була проліферація фібробластів, збільшення кількості аргірофільних та колагенових волокон, виявлених гістохімічним фарбуванням зрізів. Характерним було значне поширення порталних шляхів за рахунок перипортальних некрозів з ознаками регенерації СТ, кровоносних та лімфатичних судин. Названі судини з'являлись у нетипових місцях, часто в між часточкових септах, у якості патологічних анастомозів (рис. 9.12).

У відношенні не індукованої гепатопротекторами регенерації ушкодженої  $\text{CCl}_4$  та етанолом печінки, слід вказати, що її ознаки були досить обмеженими і характеризувались наявністю нечисленних двоядерних клітин та збільшенням кількості гіпертрофованих гепатоцитів, а також клітин з великим ядром, в якому визначалось багато ядерець, що вказує на поліплоїдизацію.



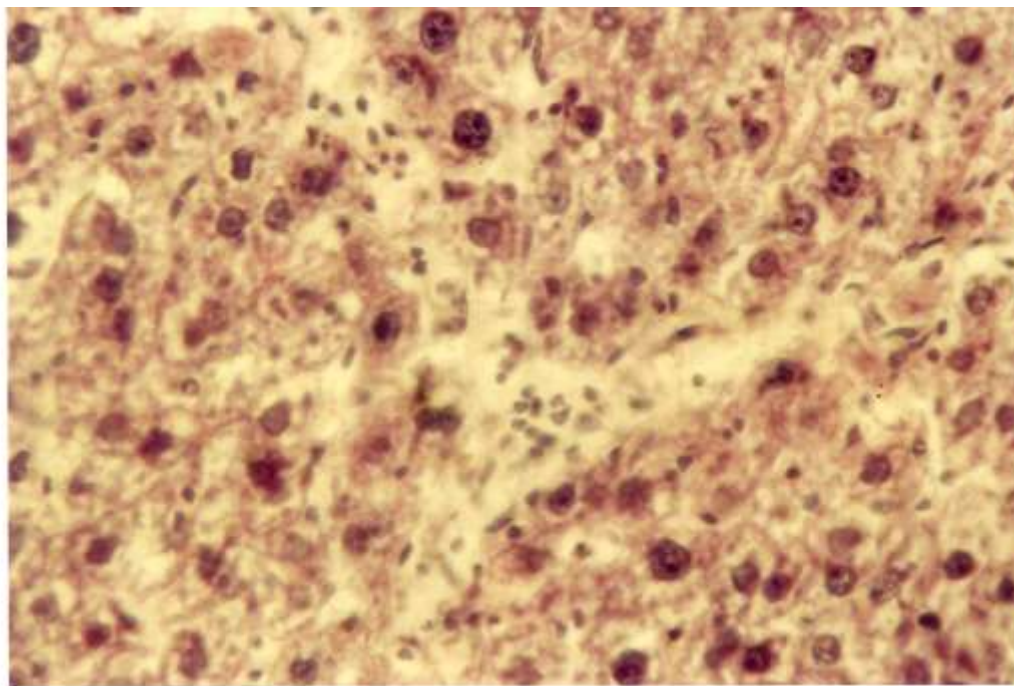


Рис. 9.10. Скупчення нейтрофілів у просвіті центральної вени на тлі дистрофії та некрозу гепатоцитів. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

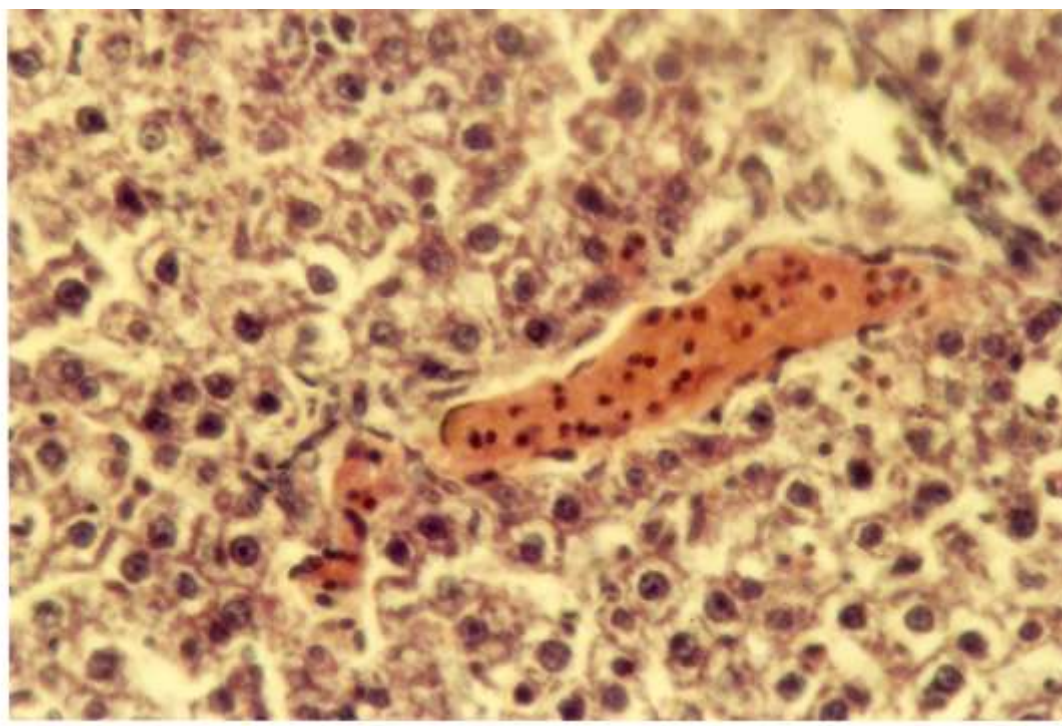


Рис. 9.11. Тромбоз вени на тлі балонної дистрофії гепатоцитів Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

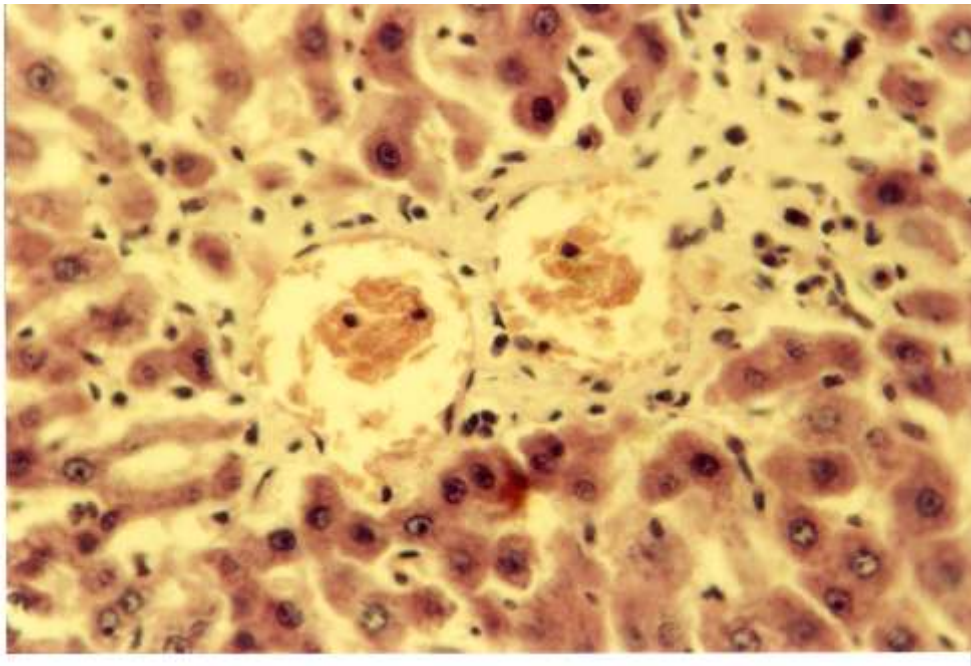


Рис. 9.12. Гемангіоектазії. Новоутворення кровоносних судин у порто-портальній сполучнотканинній септі. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Поряд з перипортальними вогнищевими та дифузними внутрішньочасточковими некрозами, проявами альтерації були різної глибини та поширеності дистрофічні зміни. Вони стосувались білкового і ліпідного обміну. Найбільш постійно виявлялись білкова зерниста та гідропічна дистрофії. Остання частіше носила осередкових характер, але за глибиною сягала вигляду незворотної балонної дистрофії із розвитком колікваційного некрозу. Гідропічна дистрофія, як відомо, розвивається внаслідок посилення функції лізосомальних гідролітичних ферментів, які розщеплюють великі молекули білків і підвищують внутрішньоклітинний онкотичний тиск, що спричиняє накопичення води. Це призводить до того, що цитоплазма розріджується, гинуть органели і з'являються крупні вакуолі рідини, особливо перинуклеарно. Клітини збільшуються в об'ємі, контури їх місцями посилюються. Позаклітинний матрикс при такій дистрофії звужується, іноді забруднюється еозинофільними зернистоглибчастими білковими компонентами



(можливо фрагментами некротизованих і лізованих гепатоцитів) (рис. 9.13). Трапляється апоптоз окремих клітин та колапс балок гепатоцитів, що є важливим предиктором для розвитку сполучнотканинних септ.

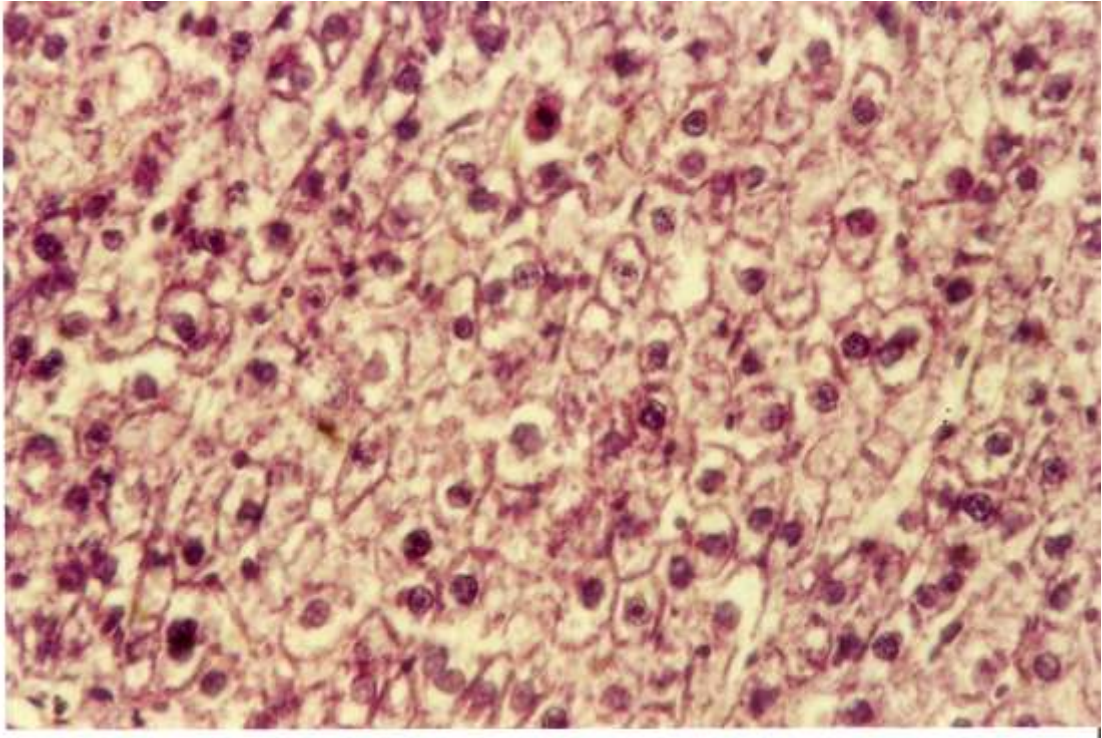


Рис. 9.13. Балонна дистрофія та колікваційний некроз гепатоцитів із «забрудненням» позаклітинного матриксу. Печінка нелікованого щура 2 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.

Таким чином, особливістю ХТГ у статевонезрілих щурів, який моделювався протягом шести тижнів введенням  $CCl_4$  та етанолу, є розвиток значного набряку (порушення лімфообігу), ознаки цитолізу, васкулітів, дистрофічно-некротичні зміни та виразна запальна інфільтрація.

**9.1.2. Група порівняння III серії експерименту.** Піддослідні неліковані тварини III серії експериментів, яким протягом восьми тижнів вводили гепатотоксини ( $CCl_4$  та етанол) з метою моделювання ХТГ з трансформацією у ЦП та наступним «відпочинком» протягом шести тижнів, через 14 тижнів від

початку дослідів слугували групою порівняння для дослідження ефективності антифіброзної терапії гепатопротекторами у порівняльному аспекті.

Проведене гістологічне дослідження тканини печінки тварин даної групи дослідів дозволило встановити, що з припиненням введення гепатотоксинів ми отримали адекватну модель формування ЦП на тлі ХТГ. Так через шість тижнів спостереження відбувалися певні компенсаторні процеси, які полягали у зменшенні некротичних та дистрофічних змін у гепатоцитах, а також вогнищево у зменшенні інтенсивності набряку. Проте, іноді ексудативні та проліферативні компоненти запалення посилювались як у портальних шляхах, так і всередині часточок. Дані предиктори фіброзу посилювались і слугували морфологічним субстратом для розвитку численних щільних сполучнотканинних порто-портальних, порто-центральных септ з облітерацією центральных вен та формуванням різних розмірів псевдочасточок. Тобто, у тварин групи порівняння даної серії експериментів у печінці виявлялися не лише розвиток ЦП (F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> за системою METAVIR), а і спостерігалася прогредієнтність його перебігу. Так в окремих тварин зберігався набряк портальних шляхів та перипортальні некрози (рис. 9.14). Відбувалися відокремлення окремих гепатоцитів від печінкових балок набряковою рідиною, які при звичайній світловій мікроскопії не мали виразних ознак дистрофії та некрозу (рис. 9.15). Це явище ми оцінювали як можливу міграцію гепатоцитів до «потрібного» місця регенерації органу. Спонтанна, не індукована гепатопротекторами регенерація гепатоцитів у більшості статевонезрілих щурів була, на наш погляд, інтенсивною, і проявлялась гіперплазією та гіпертрофією гепатоцитів з наявністю великої кількості поліплоїдних ядер та збільшенням кількості двоядерних клітин, що, можливо, свідчить про ацитокінетичний їх поділ. Не повністю відновлювались структури строми, зокрема синусоїди, тому часточки органу нагадували «вузли-регенерати».

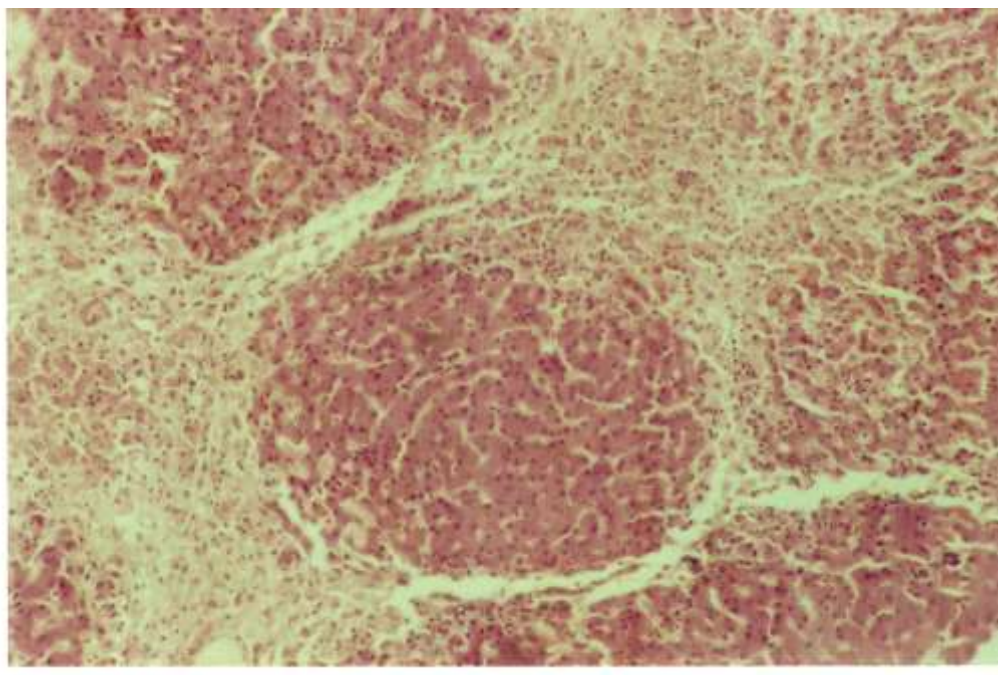


Рис. 9.14. Значний набряк та масивний коліквацийний некроз гепатоцитів на тлі цирозу печінки. Печінка нелікованого щура 3 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

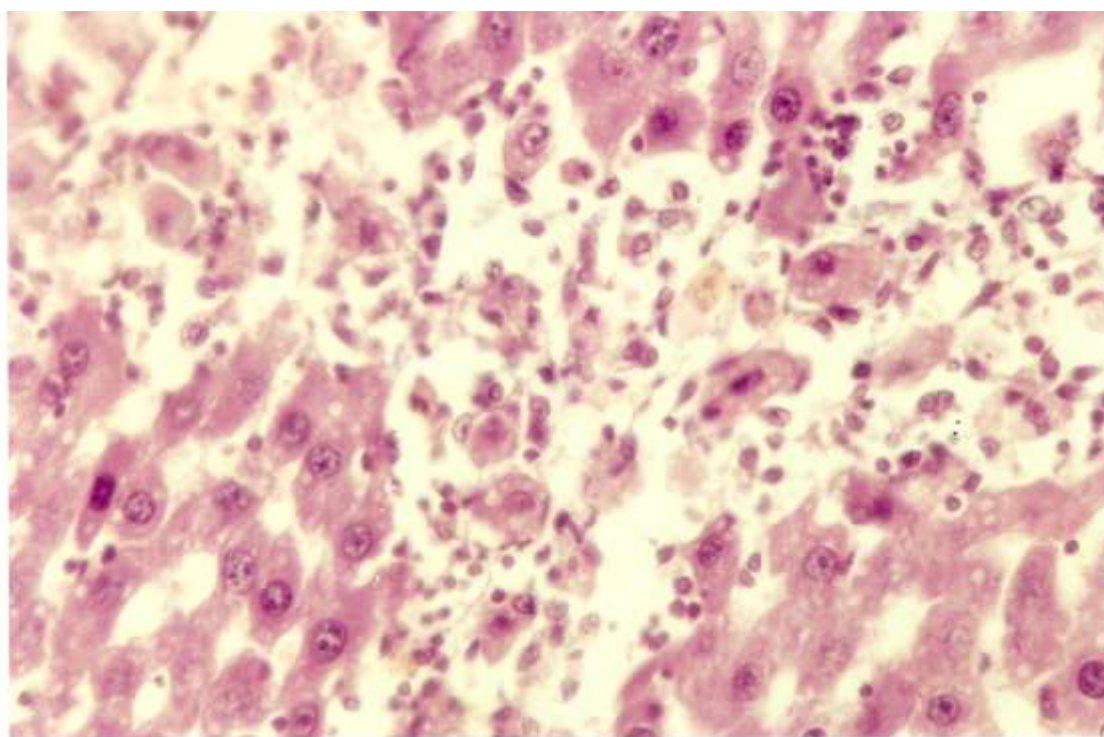


Рис. 9.15. Дезінтегровані, можливо мігруючі, гепатоцити на тлі набряку та запальної інфільтрації. Печінка нелікованого щура 3 серії експериментів (група порівняння). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Отже, через чотирнадцять тижнів від початку експерименту, після шести тижневого «відпочинку», у печінці піддослідних щурів характерними ознаками ЦП, що сформувався на тлі ХТГ була наявність сполучнотканинних септ з облітерацією центральних вен та формуванням псевдочасточок. Спонтанна регенерація у даному випадку відбувалася значною мірою за рахунок поліплоїдизації та гіпертрофії гепатоцитів.

## **9.2. Патоморфоз хронічного токсичного гепатиту у статевонезрілих щурів, які отримували гепатопротектори в якості патогенетичної терапії**

**9.2.1. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором антраль.** Гістологічне дослідження печінки статевонезрілих щурів із моделлю ХТГ, які паралельно із введенням гепатотоксинів отримували лікувально-профілактичне лікування (II серія експерименту) протягом шести тижнів вітчизняним синтетичним гепатопротектором антраль, показало, що загальна архітектоніка часточкової будови органу не порушена. Портальні шляхи розширені в першу чергу за рахунок набряку (рис. 9.16) та збільшення кількості клітинних елементів у результаті проліферації переважно міофібробластів та помірної інфільтрації лімфоцитами, макрофагами.

У кровоносних магістралях портальних шляхів характерними були нерівномірний набряк адвентиції із збільшенням кількості розширених лімфатичних судин у порівнянні з контрольними тваринами, але дещо меншим у порівнянні із нелікованими тваринами. Разом з тим субінтимальний набряк та ознаки васкуліту гілок ворітної вени траплялися рідко. Що стосується жовчних проток то ознак холестазу, запальної інфільтрації чи інших відмінностей від інтактних тварин контрольної групи гістологічно не виявлено.



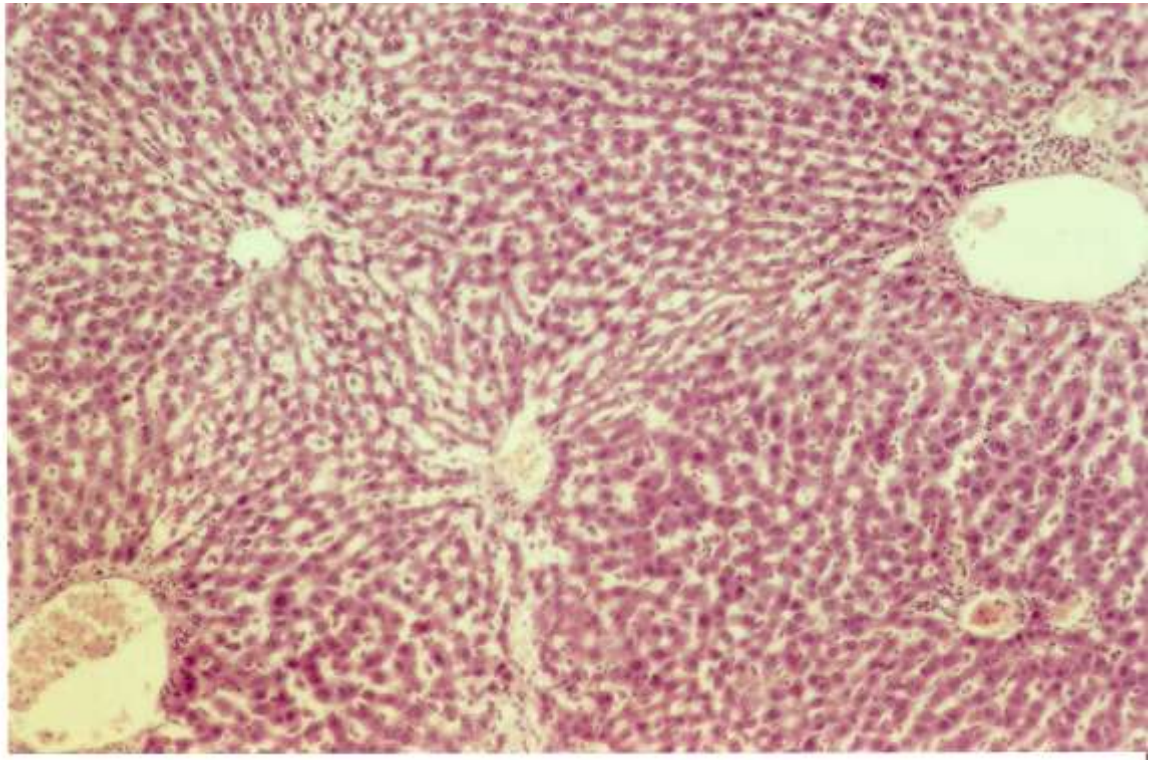


Рис. 9.16. Значний набряк строми печінки з вогнищевою атрофією гепатоцитів (оглядовий вигляд). Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення антралю. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 100.

Альтеративні зміни в печінці за глибиною та розповсюдженням у порівнянні із нелікованими тваринами II серії експерименту мали помітно слабший характер. Вони полягали в наявності перипортальної дезінтеграції, роз'єднанні гепатоцитів у балках набряковою рідиною (рис. 9.17). Внутрішньочасточкові некрози охоплювали 2-3 гепатоцити і зустрічались не постійно. У всіх піддослідних щурів, які отримували щоденно антраль, альтеративні зміни проявлялись в основному у розвитку білкової зернистої та дрібновакуольної жирової дистрофії гепатоцитів, яка, на наш погляд, із припиненням інтоксикації могла б мати зворотній характер. Гідропічна дистрофія гепатоцитів при застосуванні антралю була обмеженою. Перинуклеарний набряк із витісненням органел на периферію клітини (балонна дистрофія) траплявся вкрай рідко. Місцями гепатоцити відновлювали оксифільність своєї цитоплазми до рівня контролю. Ядра були переважно однакових розмірів з одним ядерцем. Кількість поліплоїдних гепатоцитів при

застосуванні антралю майже не відрізнялись від контролю. Балкова орієнтація та контури гепатоцитів на відмінну від нелікованих тварин були чітко окреслені (рис. 9.18). Звертає увагу суттєве розширення просторів Діссе прозорою набряковою рідиною та набухання клітин Купфера, які разом з ендотеліоцитами віддалялись від гепатоцитів. Просвіт синусоїдів теж місцями був розширеним аналогічною прозорою рідиною, у ньому траплялись окремі лімфоцити та макрофаги. Але інтенсивність запальної інфільтрації в органі в цілому відповідала  $A_{0-1}$  за системою METAVIR. На основі цих результатів ми вбачаємо наявність у даного досліджуваного гепатопротектору виразного протизапального ефекту.

Оцінюючи стан ПКМ, який в умовах експериментального ХТГ при лікувально-профілактичному введенні антралю був розширеним прозорою, не еозинофільною рідиною (лімфою), без присутності у ній значної кількості клітинних елементів, можна констатувати, що даний гепатопротектор володіє детоксикаційною дією, основним патогенетичним механізмом якої є посилення синтезу тканинної рідини та елімінація токсичних продуктів метаболізму. Цей механізм сприяє збереженню паренхіматозних клітин, послаблює альтеративні процеси, а саме дистрофію і некроз, у цілому пригнічує прогресивність перебігу та розвиток фіброзу.

При антифіброзному лікуванні (III серія експериментів) статевонезрілих щурів, в яких, шляхом інтрагастрального введення  $CCl_4$  та етанолу протягом восьми тижнів створено модель ХТГ з виразним фіброзом ( $F_3$ - $F_4$  за системою METAVIR), наступне пероральне застосування антралю протягом шести тижнів виявило виразний антифіброзний ефект за даними гістологічного дослідження печінки. Сполучнотканинні прошарки у портальних шляхах, а також кількість і ширина порто-портальних та порто-центральных септ була меншою, і ознаки набряку в них ще визначались. Сполучнотканинних септ із колагенових волокон з наявністю фібробластів і міофібробластів було менше, ніж «порожніх».

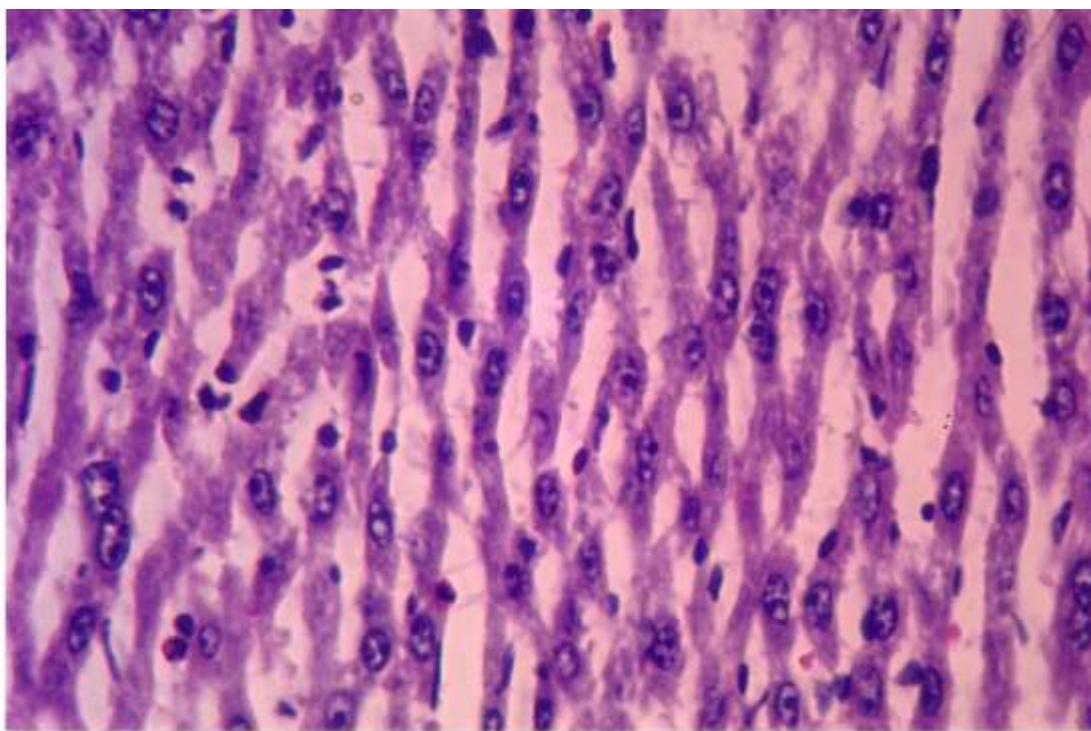


Рис. 9.17. Значний набряк строми з атрофією та схильністю до колапсу печінкових балок без запальної інфільтрації. Той самий випадок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

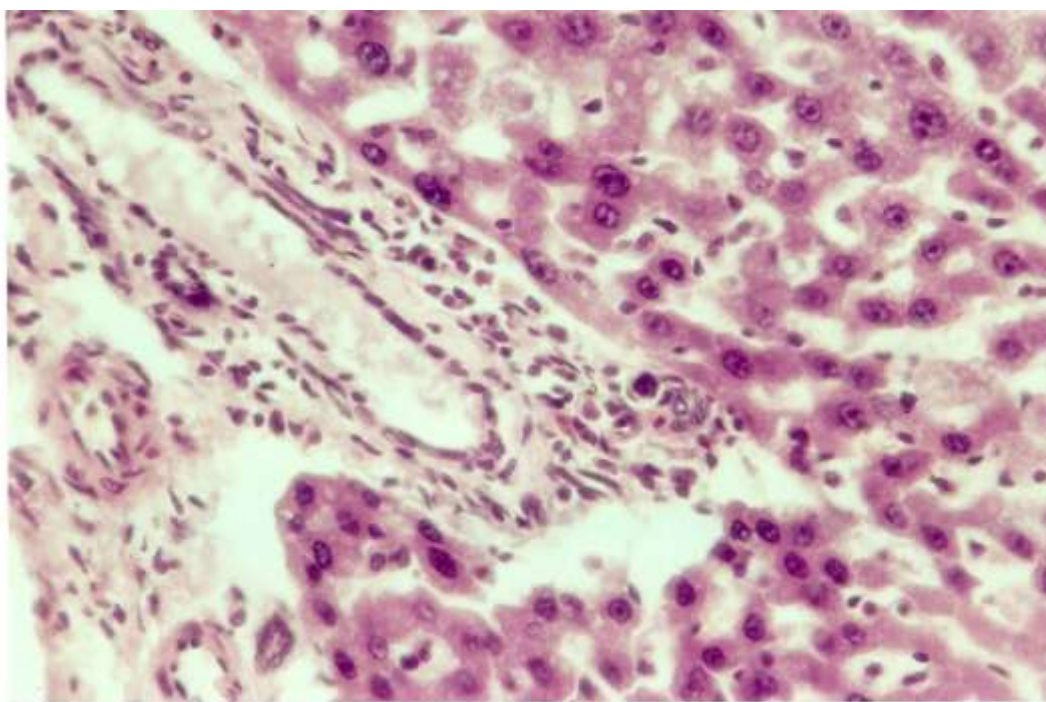


Рис. 9.18. Відновлення цілісності пограничної пластинки, послаблення дистрофічних змін гепатоцитів, які зменшені в об'ємі на тлі виразного набряку строми. Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення антралю. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Траплялись ще осередки лімфостазу у вигляді лакун. Гепатоцити у таких ділянках були зменшеними в об'ємі, іноді деформованими – витягнутими. Ядра їх мали однотипну будову. Вони були дрібними, з периферичною локалізацією еухроматину та переважно з одним ядерцем. Балкова орієнтація гепатоцитів була збережена, але часточкова структура все ж таки була порушена.

Мало місце зближення між собою портальних шляхів та формування псевдочасточок, в яких були відсутні центральні вени, а балки гепатоцитів втрачали закономірний напрямок. Траплялись незначні перипортальні некрози, нечисленні та малоклітинні інфільтрати із лімфоцитів, макрофагів, фібробластів. Внутрішньочасточкових некрозів не спостерігалось. Проліферація клітин Купфера не була суттєвою. Джерелом порто-портальних та порто-центральных септ був колапс атрофованих балок гепатоцитів із заміщенням їх на СТ. Цьому могла сприяти гіпоксія, зумовлена довготривалим лімфостазом. Чи є такі зміни особливістю перебігу експериментального ХТГ у статевонезрілих щурів, чи є парадоксальним результатом довготривалої дії антраю, важко визначитись, тому ми підкреслюємо, що дітям препарат показаний для лікування, але короткими курсами.

**9.2.2. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів екстрактом артишоку.** Використання рослинного гепатопротектору на основі екстракту артишоку для лікувально-профілактичного лікування ХТГ у статевонезрілих щурів за результатами гістологічних досліджень печінки, яке проводилось з метою уточнення відомих та виявлення нових патогенетичних механізмів його фармакологічної ефективності, показало, що в цілому даний гепатопротектор після застосування протягом шести тижнів суттєво не впливає на його морфогенез. Але все ж таки деяка позитивна динаміка, а саме зменшення набряку в портальних шляхах та в стромі часточок, незважаючи на схильність до цього процесу у статевонезрілих тварин.

Ступінь некрозопальних процесів в печінці щурів, які отримували лікувально-профілактичне лікування артишоком дещо зменшувався.



Зменшення глибини, поширення і непостійність жирової дистрофії у тварин, які отримували гепатопротекторну терапію у порівнянні з нелікованими тваринами, дає підстави стверджувати про наявність певного позитивного фармакологічного впливу на метаболізм ліпідів, що передбачає наявність мембраностабілізуючої дії.

Разом з тим при мікроскопії печінки спостерігалася досить розповсюджена інфільтрація портальних шляхів макрофагами, міофібробластами, лімфоцитами. Остання спричиняла порушення цілісності пограничної пластинки і розповсюдження інфільтрації на перипортальні ділянки часточок печінки, де, як і у нелікованих тварин, гістологічно виявляються перипортальні «східчасті» некрози. Але домінантними проявами альтерації в умовах лікувально-профілактичного лікування артишоком є розвиток білкової гідропічної дистрофії, яка за глибиною сягає місцями виду балонної (рис. 9.19). Гідропічна дистрофія в окремих випадках носила дифузний характер, коли клітини печінки майже впритул прилягали одна до одної, що звужувало позаклітинний простір і супроводжувалось ущільненням жовчі в жовчних протоках. Перинуклеарне просвітлення цитоплазми гепатоцитів досить значне. Органели клітини витісняються на периферію, спонукають потовщення та руйнування зовнішньої мембрани. При цьому забруднювалось і ПКМ (рис. 9.20).

Траплялися ознаки васкуліту, як крупних гілок портальної вени, так центральних вен. В їх просвіті визначалися ознаки стазу.

На тлі лікувально-профілактичного лікування екстрактом артишоку поряд із гідропічною дистрофією у деяких експериментальних тварин зберігалася і жирова дрібновакуольна дистрофія, подібна до такої у нелікованих щурів. Трапляються дрібні осередки внутрішньочасточкового некрозу та запальної інфільтрації лімфоцитами та макрофагами. Внутрішньочасточкові інфільтрати, як правило, багатоклітинні.

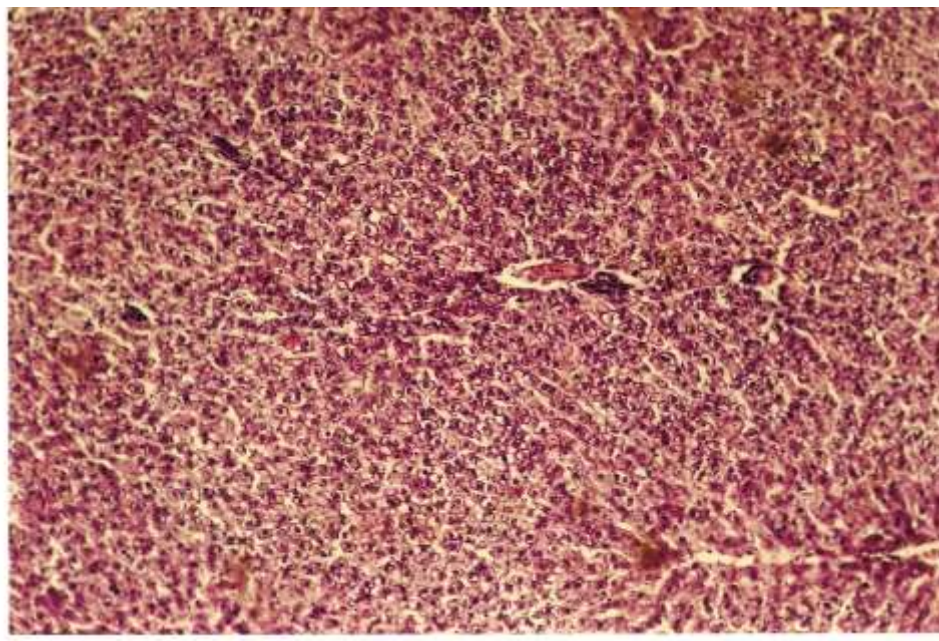


Рис. 9.19. Дифузна гідропічна дистрофія гепатоцитів із вогнищевим звуженням просвіту синусоїдів (оглядовий вигляд). Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення екстракту артишоку. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 100.

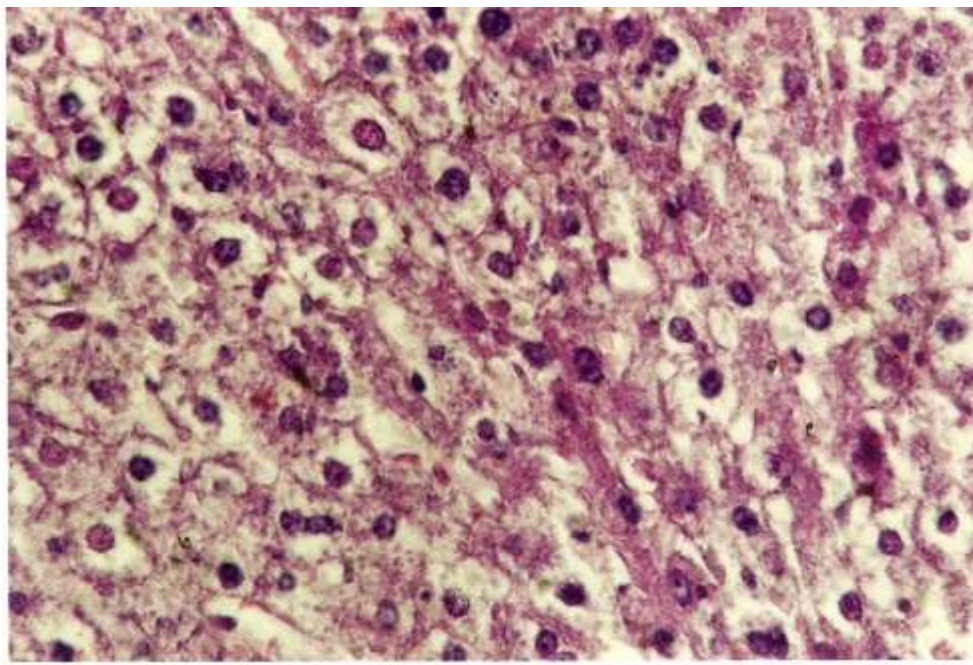


Рис. 9.20. Балонна дистрофія гепатоцитів із колікваційним некрозом окремих клітин. «Забруднення» позаклітинного матриксу глибокими та фібрилярними еозинофільними масами. Той самий випадок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Постійними були предиктори перисинусоїдального та перицелюлярного склерозу, такі як звуження та «забруднення» ПКМ глибокими або фібрилярними еозинофільними масами (див. рис. 9.20).

Поряд із деструктивними змінами у паренхіматозних клітинах спостерігалися проліферація та набухання клітин Купфера. При посрібленні зрізів тканини печінки за Гоморі виявлялись капіляризація синусоїдів, яке проявляється потовщенням та колагенізацією ретикулярних волокон між балками гепатоцитів. У таких осередках помітно звужений просвіт центральної вени, у стінці якої теж спостерігалися мультиплікація аргірофільних та колагенових волокон.

Що стосується фіброгенезу, то як в умовах лікувально-профілактичного (II серія експериментів) введення артишоку, так і антифіброзного лікування (III серія експериментів), цей патологічний процес був значно виразним. Мали місце численні порто-портальні та порто-центрально-септи з нерівномірною запальною інфільтрацією, що відповідало F<sub>3</sub> – F<sub>4</sub> за системою METAVIR (рис. 9.21).

Єдиною відмінною від нелікованих тварин було зменшення набряку, як у портальних шляхах, так і внутрішньочасточково. У портальних шляхах печінки статевонезрілих щурів обох серій експериментів, як і у нелікованих тварин визначались поширені інфільтрати та збільшення кількості колагенових волокон. В інфільтратах переважали міофіброласти. Але дещо рідше траплялись перипортальні та внутрішньочасточкові некрози. Поряд із дистрофічними змінами виявлялись ознаки інтенсивної регенерації з формуванням псевдочасточок.

Таким чином, препарат на основі екстракту артишоку має незначні протизапальні та антифіброзні протекторні властивості, але все ж таки позитивно впливає на метаболізм, дещо стимулює регенерацію, пригнічує розвиток жирової дистрофії. Він суттєво гальмує синтез тканинної рідини і розвиток набряку, а цей процес може впливати на синтез та евакуацію жовчі.



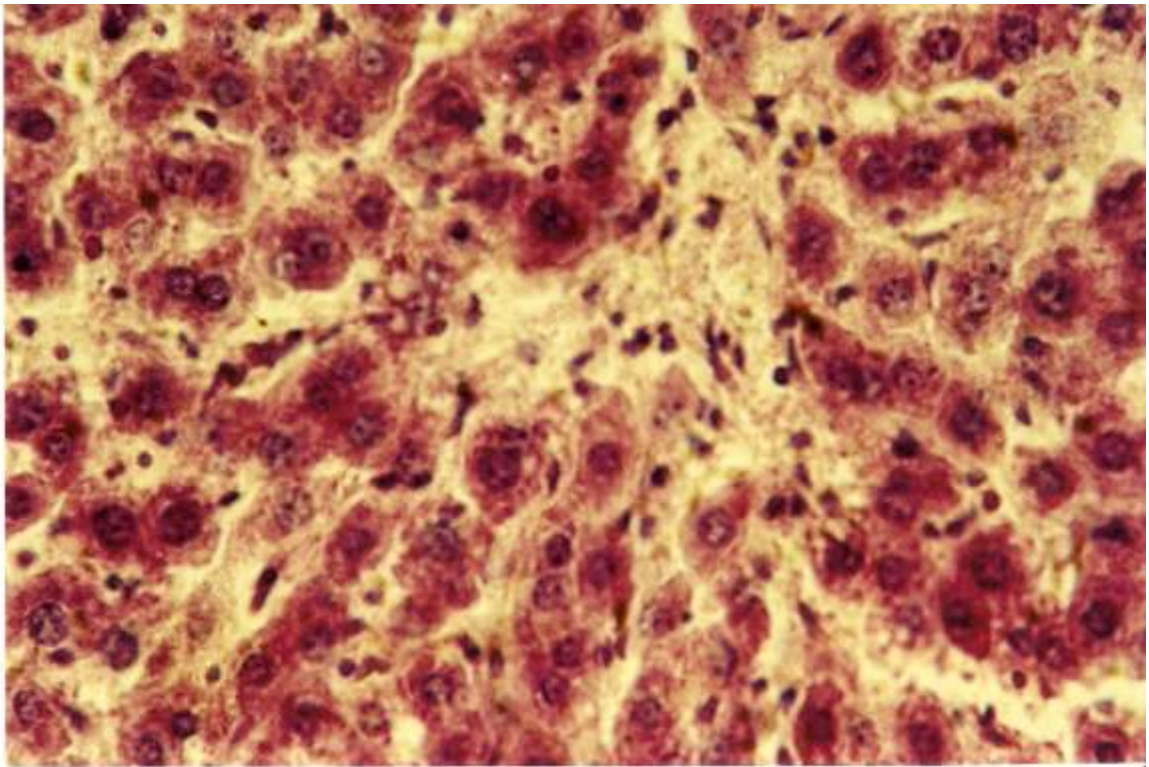


Рис. 9.21. Облітерація центральної вени з розвитком численних внутрішньо часточкових сполучнотканинних септ на тлі регенерації гепатоцитів. Печінка щура з серії експериментів на тлі введення екстракту артишоку. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.

**9.2.3. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором біциклол.** При лікувально-профілактичній терапії експериментального ХТГ у статевонезрілих тварин біциклолом гістологічне дослідження печінки показало, що позитивні ознаки лікувального патоморфозу у порівнянні із нелікованими тваринами досить суттєві. Так загальна архітектоніка структури органу збережена повністю. Часточкова будова з балковою орієнтацією гепатоцитів у жодній експериментальній тварини не порушена. Портальні шляхи помірно розширені за рахунок набряку та збільшення кількості лімфатичних судин. Місцями траплялися лімфо-гістіоцитарні інфільтрати, які не порушують цілісність пограничної пластинки. Кровоносні магістралі та жовчні протоки звичайної будови, за винятком розрихлення їх адвентиції набряковою рідиною. При

фарбуванні за ван Гізон на відміну від нелікованих щурів помітної мультиплікації колагенових волокон не виявлено, натомість при посрібленні зрізів печінки азотнокислим сріблом констатовано збільшення кількості та набухання ретикулярних волокон. Останні траплялися всередині часточок та навколо центральних вен. Місцями відбувалось посилення аргірофільного каркасу печінки (рис. 9.22). Має місце розширення просвіту синусоїдів та просторів Діссе прозорою рідиною. У просвіті синусоїдів визначалися набухлі, іноді десквамовані, клітини Купфера та великі лімфоцити. Ендотеліоцити синусоїдів через розширення простору Діссе подекуди теж вільно розміщувалися в просвіті. Центральні вени без ознак запалення мали класичну локалізацію у центрі часточок. Звертала увагу відсутність у деяких тварин поширеної гідропічної дистрофії. Вона була непостійною і носила осередковий характер, але часто поєднувалась з дрібновакуольною жировою дистрофією. Загальна площа подібних змін була невеликою, тому що переважала зерниста дистрофія. Взагалі паренхіматозні клітини печінки не мали ознак анізоцитозу, анізонуклеозу, не було ознак некрозу. Гепатоцити набували нормальних розмірів, в основному мали нормохромне ядро з одним ядерцем. Траплялись вогнища регенерації, в яких гепатоцити відновлювали еозинофільність та гомогенність цитоплазми, серед них було багато двохядерних (рис. 9.23).

В окремих випадках внутрішньочасточкового набряку гепатоцити за розміром були меншими, ніж у контролі, що дало підставу думати про розвиток їх атрофії.

Активність СДГ у них частково відновлюється (Рис. 9.24), і, на відмінну від нелікованих тварин, не траплялось широких ділянок, де вона не визначалась взагалі. За системою METAVIR активність некрозапальних процесів знижувалась до  $A_{1-2}$ .

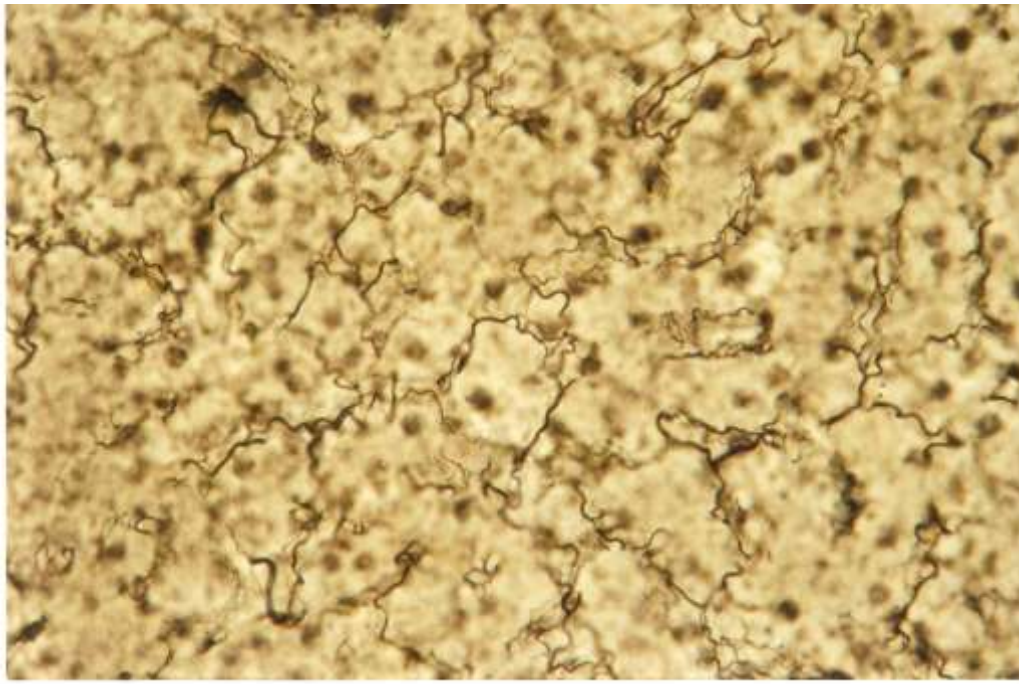


Рис. 9.22. Посилення аргірофільного каркасу печінки. Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення біциклолу. Посріблення зрізів за Гоморі. x 400.

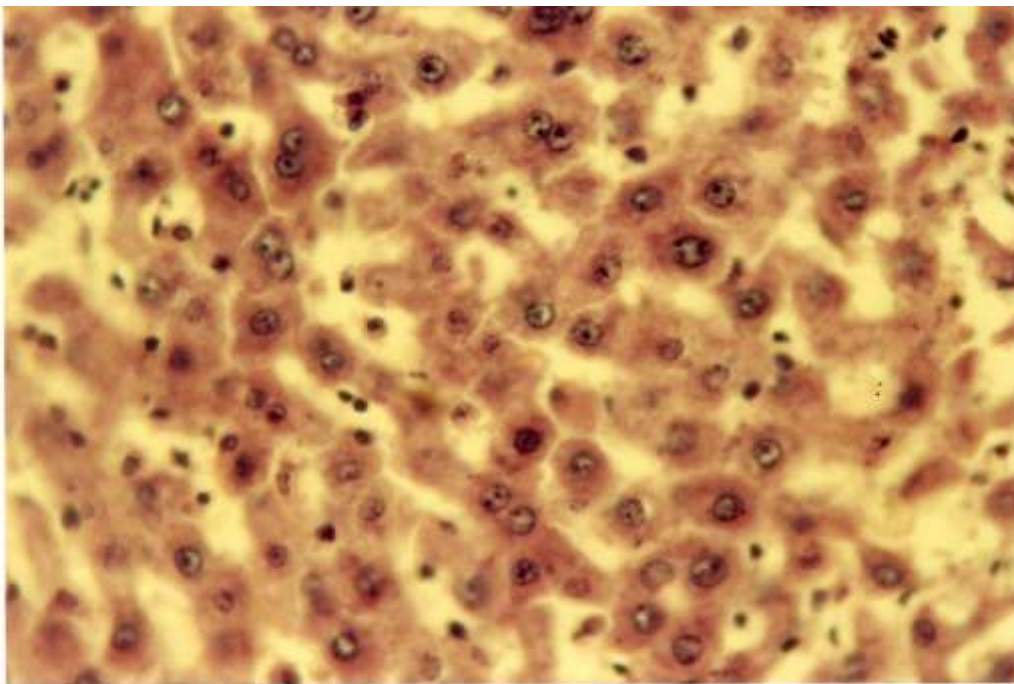


Рис. 9.23. Вогнище регенерації гепатоцитів, які мають нормальну гомогенну еозинофільну цитоплазму. Однотипові ядра з одним ядерце, серед них численні двоядерні гепатоцити. Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення біциклолу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.



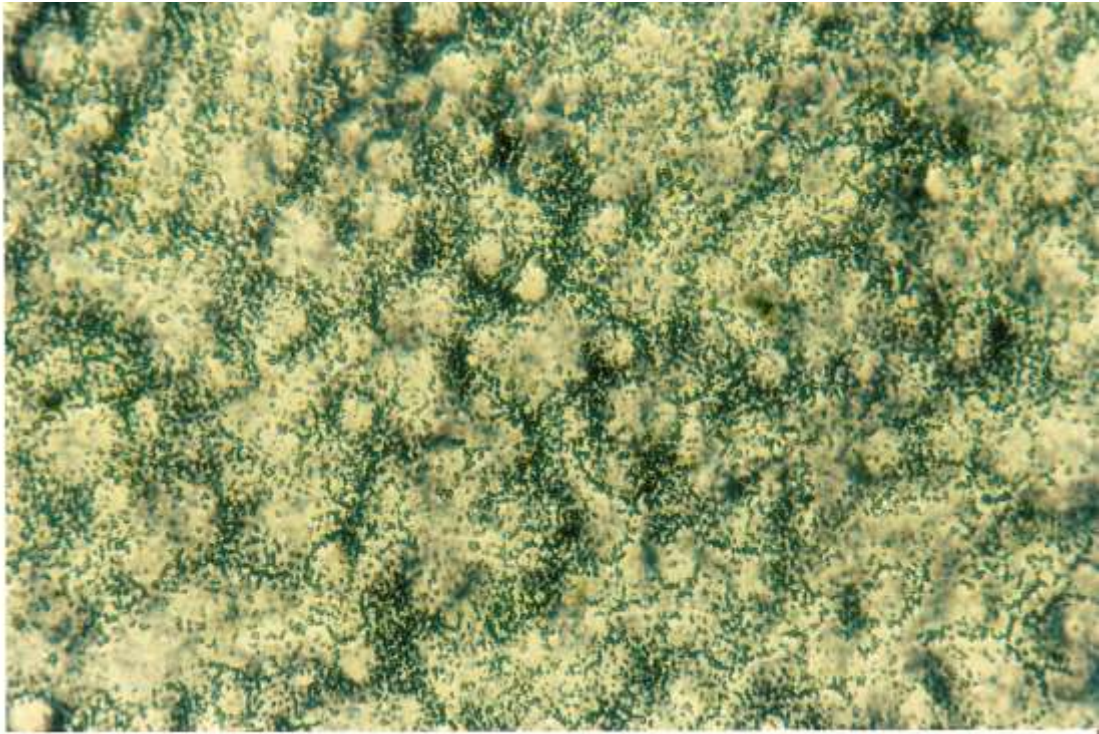


Рис. 9.24. Відновлення активності СДГ у гепатоцитах. Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення біциклолу. Зрізи оброблені за Нахласом. x 400.

Оцінюючи результати гістологічного дослідження печінки статевонезрілих щурів, яким проводилось профілактичне лікування біциклолом, встановлено, що даний препарат має значну детоксикаційну дію, механізм якої подібний до антралю, тобто посилюючи синтез тканинної рідини він активно елімінує гепатотоксини. Із всіх синтетичних гепатопротекторів він, поряд з антралем, володіє потужними антиоксидантними властивостями і проявляє антицитолітичну, органозберігаючу дію, блокує розвиток предикторів фіброгенезу, зокрема, запалення.

Використання біциклолу у в якості гепатопротектора при III серії експериментів, тобто при сформованому фіброзі печінки (F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> за системою METAVIR), ще переконливіше засвідчить про наявність у даного препарату антифіброзного ефекту. Так після закінчення повного курсу лікування тварин з моделлю ХТГ на стадії формування ЦП гістологічно встановлено, що портальні шляхи займали значно меншу площу, ніж у нелікованих, не дивлячись на те, що

в них ще зберігався помірний набряк. Просвіт гілок портальної вени незначно розширений кров'ю, рідко з ознаками стазу. СТ за ходом кровоносних магістралей та жовчних проток дещо ущільнена за рахунок збільшення колагенових волокон у порівнянні з контролем, що краще виявляється при фарбуванні зрізів за ван Гізон. Запальна інфільтрація представлена осередками, у вигляді невеликих скупчень лімфоцитів, макрофагів та міофібробластів. У цілому часточкова будова та балкова орієнтація гепатоцитів порушена незначно. Траплялось зближення портальних шляхів та наявність порто-портальних септ із формуванням псевдочасточок. Порто-центральні внутрішньочасточкові сполучнотканинні септи малочислені, ніжні, місцями з ознаками набряку. Перисинусоїдальний та перицелюлярний фіброз печінки тварин даної серії експериментів значно менший, ніж у щурів II серії експериментів, які отримували лікувально-профілактичне лікування і зустрічається не постійно, що може засвідчити наявність у біциклолу суттєвої антифіброзної дії.

Що стосується паренхіматозних клітин печінки щурів даної серії експериментів, то у порівнянні з нелікованими тваринами гістологічно констатовано значну нормалізацію їх структури. Так жирової дистрофії взагалі не виявлено. Білкова гідропічна дистрофія траплялась у вигляді дрібних осередків переважно під капсулою, яка відрізнялась від норми нерівномірним склерозом та деяким набряком. Некрозу гепатоцитів не виявлено. Натомість у великій кількості траплялися двохядерні гепатоцити (частіше у перипортальних ділянках часточок) до 4-5 в полі зору, що свідчить про інтенсифікацію регенераційних процесів в органі. Просвіт синусоїдів в основному вільний, рідко в ньому траплялися еритроцити та поодинокі лімфоцити. Клітини Купфера за своєю кількістю незначно переважали контроль і їх набагато менше, ніж у нелікованих статевонезрілих щурів.

Таким чином, біциклол є одним із ефективних гепатопротекторів, який проявляє детоксикаційну, мембраностабілізуючу дію, який виразно посилює регенерацію та проявляє антифіброзні властивості і може застосовуватись у



педіатричній практиці як під час загострення ХГ, так і при розвитку ЦП. Він знижує активність некрозапальних процесів із рівня  $A_3$  до  $A_{1-2}$  та фіброзу із  $F_{3-4}$  до  $F_{2-3}$  за системою METAVIR.

**9.2.4. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором глутаргін.** Для оцінки фармакологічної ефективності глутаргіну – вітчизняного гепатопротектору, що є донатором оксиду азоту, у порівняльному аспекті проведено експериментальне дослідження, аналогічно до такого при застосуванні препарату «Антраль». При гістологічному дослідженні печінки щурів, які отримували лікувально-профілактичну терапію глутаргіном, встановлено, що архітектоніка часточкової будови органу в основному збережена, але у деяких центральних венах траплялися ознаки запалення та склерозу з потовщенням стінки, рідко з облітерацією просвіту. У портальних трактах, на відміну від тварин, яким вводили антраль, спостерігалися інфільтрати переважно з мононуклеарів : міофібробластів, моноцитів та лімфоцитів, траплялися домішки нейтрофільних лейкоцитів, плазмоцитів (рис. 9.25). Посилення набряку у порівнянні з контролем не відмічалось, він є значно меншим у портальних трактах і стосовно просторів Діссе у порівнянні з тваринами, які отримували антраль. На наш погляд, підсилення синтезу тканинної рідини при застосуванні глутаргіну не відбувається. Не виявлено і структурних відхилень у будові жовчних протоків. Проте зустрічалися внутрішньочасткові «порожні» сполучнотканинні септи, представленні аргірофільними та колагеновими волокнами, які місцями потовщені і утворювали непоширені «сіточки», що може слугувати морфологічним доказом капіляризації синусоїдів (рис. 9.26). При фарбуванні зрізів тканини печінки гематоксиліном-еозином у синусоїдах виявлялися осередки набухання і проліферації клітин Купфера та скупчення лімфоцитів чисельністю до 5 клітин, які місцями формують ланцюжки.

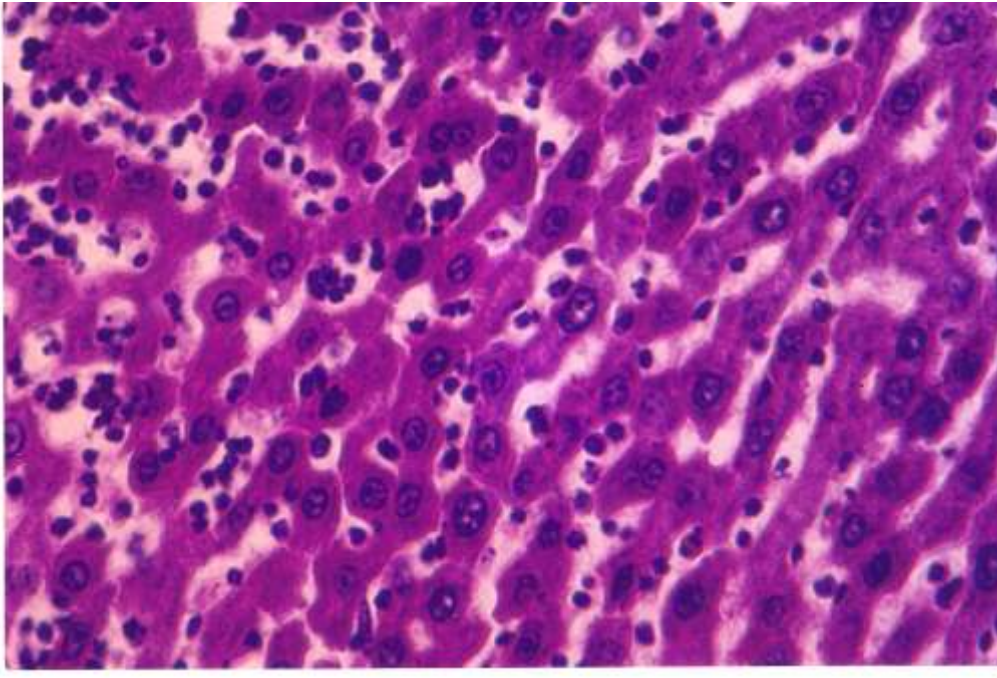


Рис. 9.25. Дифузна запальна інфільтрація мононуклеарами на тлі зернистої дистрофії гепатоцитів. Печінка щура на тлі введення «Глутаргіну», 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

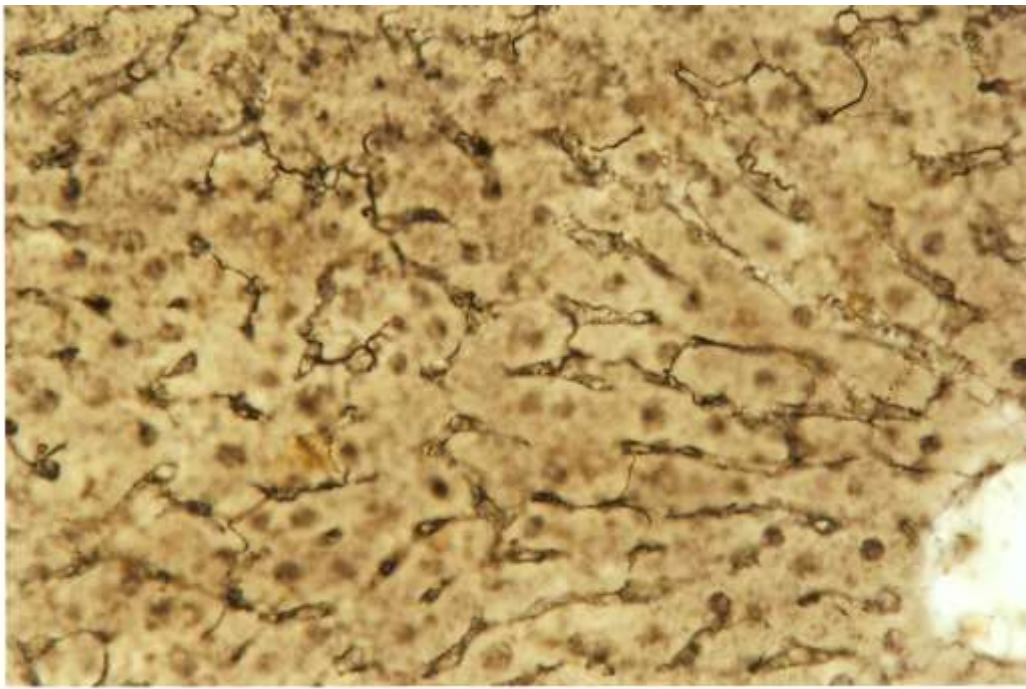


Рис. 9.26. Збільшення кількості аргірофільних волокон у синусоїдах. Печінка щура на тлі введення глутаргіну, 2 серія експериментів. Посріблення зрізів за Гоморі. х 400.

Альтеративні зміни паренхіми органу у порівнянні із такими у нелікованих щурів були помітно менші. Але траплялися осередкові непоширені перипортальні та внутрішньочасточкові некрози із скупченням навколо змертвілих гепатоцитів активних макрофагів та лімфоцитів, що може бути ознакою імунного цитолізу. Частіше ознаки альтерації полягали у наявності осередків помірно виразної гідропічної дистрофії з перинуклеарним просвітленням цитоплазми та гіпохроматозом ядер. Рідко серед них траплявся некроз окремих паренхіматозних клітин. Навколо подібно змінених клітин гістологічно виявлялось звуження просторів Діссе та ущільнення ПКМ через накопичення глибоких еозинофільних неструктурованих мас. Саме навколо таких змінених гепатоцитів констатована наявність ознак фіброгенезу типу перисинусоїдального та перицелюлярного склерозу. Останній підтверджується лише збільшенням кількості аргірофільних волокон, виявлених гістохімічно, завдяки посрібленню зрізів за Гоморі. У зрізах зафарбованих за ван Гізон колагенові волокна червоного кольору зустрічались рідко у печінці щурів, які отримували профілактичне лікування глутаргіном. Необхідно підкреслити, що жирова дистрофія практично була відсутньою в печінці щурів даної піддослідної групи.

Паренхіма печінки вказаних тварин при гістологічному дослідженні в основному характеризувалась монотонністю розмірів і структури гепатоцитів, які мали зернисту цитоплазму та невеликих розмірів ядро з маргінальним розміщенням хроматину та одним ядерцем. Вказані зміни, на наш погляд, не є ознакою альтерації, а свідчать про функціональну напругу гепатоцитів, що підтверджується зменшенням активності СДГ (рис. 9.27). Разом з тим, траплялись гепатоцити невеликих розмірів з інтенсивно зафарбованою еозином цитоплазмою та гіперхромним, деформованим, іноді фрагментованим, ядром. Вказані зміни за кількісною характеристикою суттєво переважали аналогічні у контрольних тварин і оцінені нами як прояви посилення апоптозу.

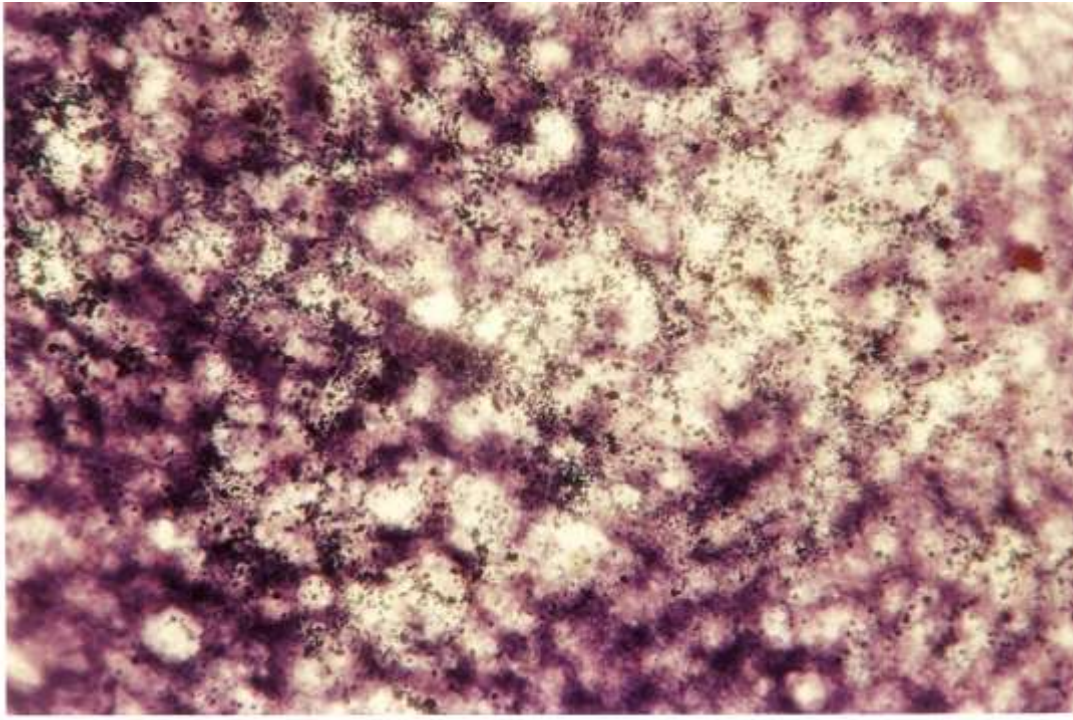


Рис. 9.27. Вогнищеве зниження активності СДГ у печінці щура, який отримував глутаргін, 2 серія експериментів. Зрізи оброблені за Нахласом. х 400.

Таким чином, аналізуючи у комплексі результати гістологічних досліджень печінки статевонезрілих щурів, яким моделювали ХТГ, і які отримували лікувально-профілактичне лікування глутаргіном, можна констатувати, що даний синтетичний гепатопротектор проявляє досить суттєвий лікувальний ефект, механізм якого дещо відрізняється від такого у антралю. Можна передбачити, що глутаргін, як донатор амінокислот та оксиду азоту, покращує мікроциркуляцію, процеси метаболізму в печінці і, в першу чергу, обмін ліпідів, блокує розвиток жирової дистрофії, суттєво гальмує розвиток незворотної гідропічної дистрофії та некрозу, тобто проявляє детоксикаційну та мембраностабілізуючу дію. Протизапальний ефект у даного гепатопротектору у порівнянні з таким в антралю дещо менш виразний.

У III серії експериментів (антифіброзна терапія) з використанням глутаргін з метою лікування ХТГ на стадії формування ЦП (F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> за системою METAVIR), методом гістологічного дослідження вивчали вплив даного гепатопротектора на фіброгенез та розвиток компенсаторно-приспосувальних



процесів, таких як регенерація, гіпертрофія та атрофія, склероз та перебудова органу. У результаті встановлено, що зміни альтеративного характеру, які спостерігалися у нелікованих тварин, після застосування даного препарату ставали менш виразними як за глибиною, так і за розповсюдженням. У печінці даних експериментальних тварин домінуючими ставали проліферативні та регенераційні процеси. Портальні шляхи не такі широкі, як у нелікованих тварин, але більш щільні. Із клітинних елементів, які їх інфільтрували, переважали міофібробласти над лімфоцитами та макрофагами. Траплялися поодинокі порто-портальні та порто-центральної септи з непостійною і помірною запальною інфільтрацією. У них виявлялися кровоносні судини з розширеним просвітом, які нами оцінені як патологічні анастомози. Розширеними були і окремі гілки ворітної вени. У їх просвіті кров'яні елементи (еритроцити та лейкоцити) щільно розміщувались, що свідчить про сповільнення току крові. Жовчні протоки не мали видимих ознак патології. Часточкова будова органу в основному була збережена, але траплялись облітерація просвіту центральних вен з розростанням СТ та відгалуженням сполучнотканинних септ (рис. 9.28), в яких, при фарбуванні зрізів за ван Гізон, визначались колагенові волокна червоного кольору. Перицелюлярний фіброз траплявся рідко і непостійно.

Структура ПКМ майже відновлювалась. Клітини Купфера в основному мали овальні видовжені ядра, що свідчить про їх трансформацію у міофібробласти. Внутрішньочасточкові інфільтрати для цієї піддослідної групи щурів не були характерними.

Звертала увагу репарація гепатоцитів з відновленням активності СДГ. Регенеруючі клітини паренхіми формували балки, які не завжди мали закономірну радіальну орієнтацію через зміщення або повну відсутність центральної вени, тобто місцями регенерація печінки була неповноцінною з утворенням вузлів – регенератів, які, як відомо, не спроможні відновити функцію в повному об'ємі. Але таких було набагато менше, ніж у нелікованих тварин.

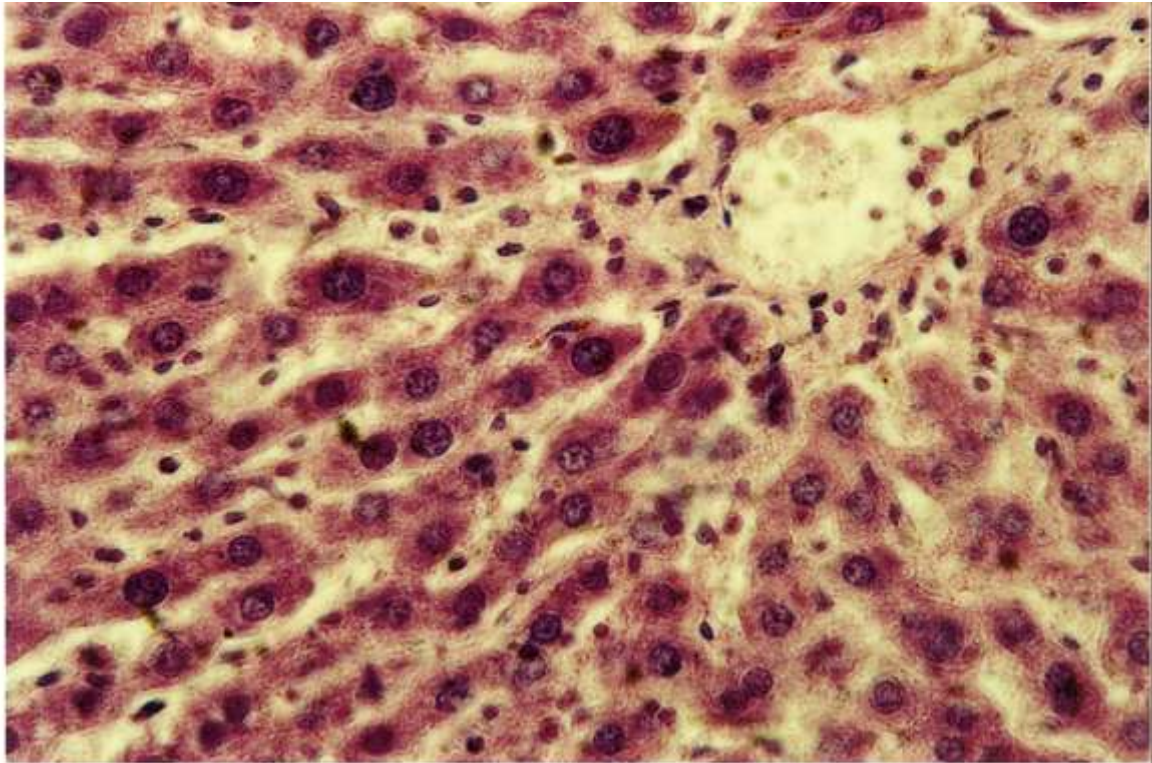


Рис. 9.28. Запалення та ущільнення стінки центральної вени з формуванням внутрішньо часточкових септ на тлі зернистої дистрофії гепатоцитів при введенні глутаргіну, 3 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Таким чином, глутаргін, як гепатопротектор, гальмує прогресивність ХТГ на стадії розвитку ЦП. Він зменшує активність некрозапальних процесів, стимулює регенерацію гепатоцитів, частково пригнічує фіброгенез.

**9.2.5. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором дарсіл.** За результатами експериментального дослідження фармакологічної ефективності рослинного гепатопротектору дарсіл при ХТГ у статевонезрілих щурів, встановлено, що дія даного препарату найбільш подібна до такої у екстракту артишоку, як в умовах лікувально-профілактичного лікування, так і за антифібротичним ефектом. Аналогічно поряд із гідропічною дистрофією зберігались вогнища дрібновакуольної жирової дистрофії. Гідропічна дистрофія не досягала за

глибиною рівня балонної. Запальна інфільтрація як порталних шляхів, так і в середині часточок була значною. У порівнянні із артишоком ще зберігалась продукція тканинної рідини. Структура ПКМ не значно відрізнялась від контролю, якщо не враховували значну проліферацію та набухання клітин Купфера та інфільтрацію лімфоцитами. Траплялись навіть осередки набряку з розширенням просторів Діссе набряковою рідиною та атрофією гепатоцитів (рис. 9.29). Мав місце анізонуклеоз як за розміром, так і за насиченням хроматином ядер спеціалізованих клітин. У деяких щурів на тлі набряку строми печінки виявлені багатоклітинні інфільтрати всередині часточок (рис. 9.30).

У печінці тварин, які отримували антифіброзне лікування дарсілом після припинення введення гепатотоксинів на тлі сформованого ЦП, звертало увагу покращення стану гепатоцитів, що полягало у звуженні перинуклеарного просвітлення та стабілізації еозинофільності цитоплазми гепатоцитів. Збільшувалась кількість двояхдерних клітин.

Стосовно фіброзних змін, слід відмітити, що вони були дещо меншими, ніж у нелікованих щурів, але було виявлено багато «порожніх» і зрілих сполучнотканинних септ, «сліпих», порто-портальних та порто-центральных. Траплялись облітеровані центральні вени та псевдочасточки паренхіми печінки, які подібні до таких у нелікованих тварин, проте траплялися рідше. Не виявлено відмінностей у стані жовчних проток та їх вмісту у порівнянні із тваринами, які отримували екстракт артишоку.

У печінці тварин, які після припинення введення гепатотоксинів на тлі сформованого ЦП отримували антифіброзне лікування дарсілом, звертало увагу покращення стану гепатоцитів, що полягало у звуженні перинуклеарного просвітлення та стабілізації еозинофільності цитоплазми гепатоцитів. Збільшувалась кількість двояхдерних клітин.



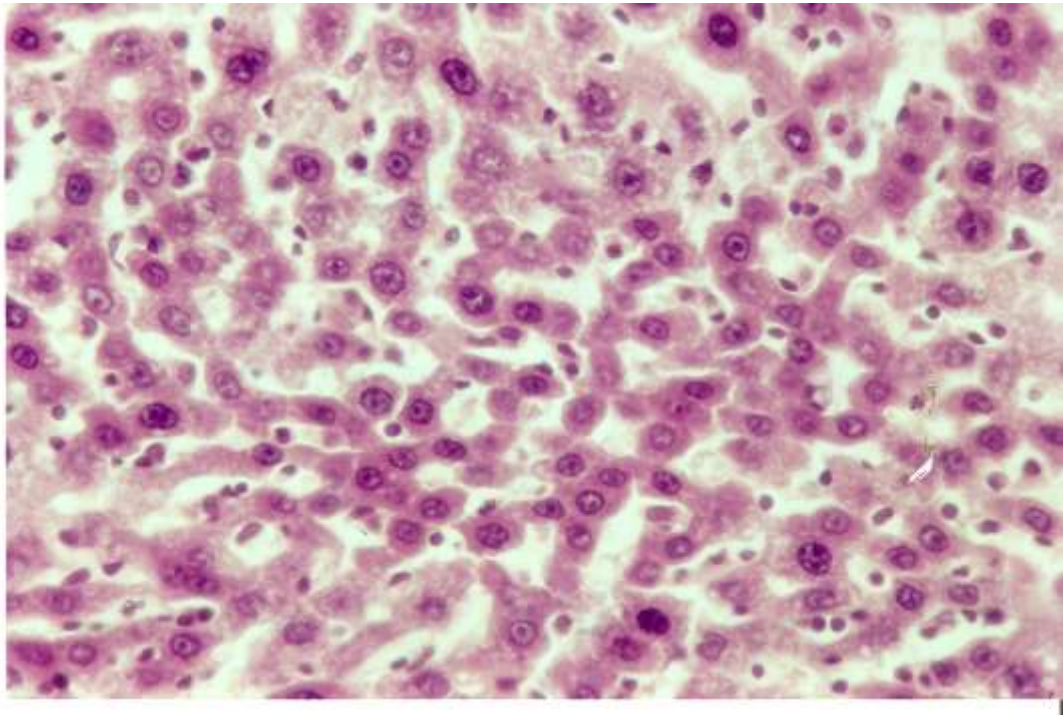


Рис. 9.29. Набрякання клітин Купфера та атрофія гепатоцитів на тлі розширення просвіту синусоїдів. Печінка щура на тлі введення дарсілу, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.

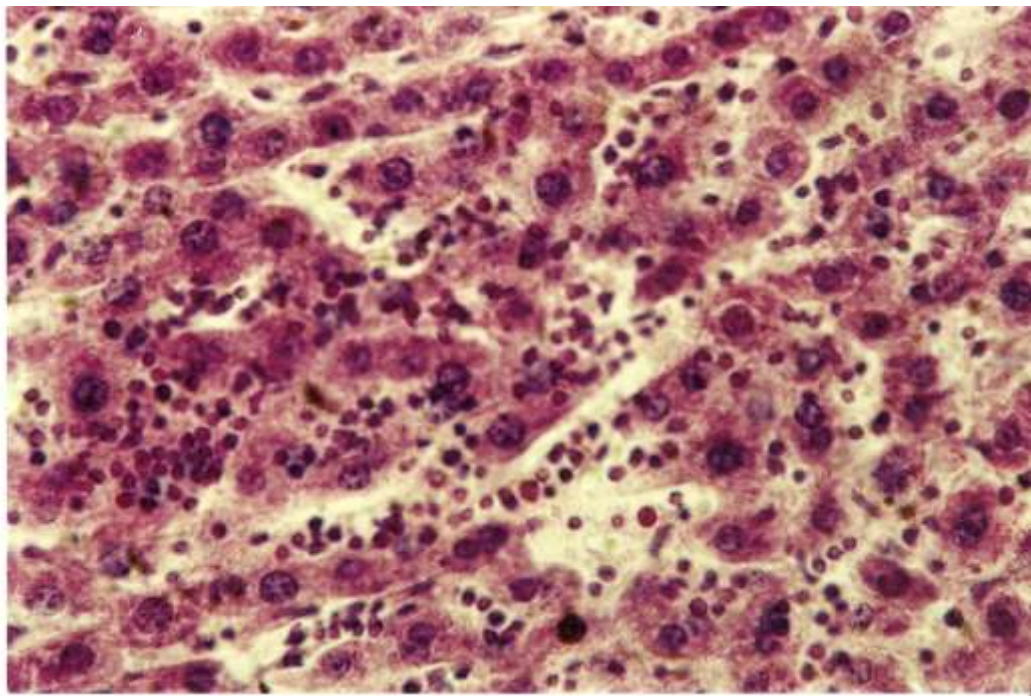


Рис. 9.30. Значна дифузна запальна інфільтрація всередині часточки на тлі набряку. Печінка щура на тлі введення дарсілу, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 400.



Стосовно фіброзних змін, слід відмітити, що вони були дещо меншими, ніж у нелікованих щурів, але виявлялись «порожні» і зрілі сполучнотканинні септи, «сліпі», порто-портальні та порто-центральні. Траплялись облітеровані центральні вени та псевдочасточки паренхіми печінки, які подібні до таких у нелікованих тварин, проте вони зустрічалися рідше. Не виявлено відмінностей у стані жовчних проток та їх вмісту у порівнянні із тваринами, які отримували екстракт артишоку.

Таким чином, дарсіл за спрямованістю та рівнем фармакологічної ефективності прирівнюється до такої у артишоку.

**9.2.6. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором есенціалє.** При гістологічному дослідженні печінки експериментальних тварин з моделлю ХТГ, які отримували одночасно гепатотоксини та есенціалє, тобто перебували на лікувально-профілактичному режимі, встановлено, що загальна архітектоніка печінки в основному збережена. Майже не порушена балкова орієнтація гепатоцитів та часточкова будова органу. Портальні шляхи нерівномірно і незначно розширені за рахунок помірного набряку, склерозу та запальної інфільтрації лімфоцитами, макрофагами, серед яких зустрічалися еозинофіли. Кровоносні магістралі та жовчні протоки не відрізняються від аналогічних у контролі. Що стосується пограничної пластинки, то вона часто порушена набряковою рідиною та інфільтрацією імунокомпетентними клітинами, яка не глибоко розповсюджується на паренхіму. У таких ділянках часточок гістологічно констатована наявність перипортального некрозу. Саме навколо дистрофічно та некротично змінених гепатоцитів спостерігалися скупчення високоактивних лімфоцитів та макрофагів, що може свідчити про імунний цитоліз окремих гепатоцитів. Рідко подібні зміни траплялися і у центрі часточок. Але домінуючими змінами альтеративного характеру при застосуванні есенціалє з метою профілактики фіброзу у печінці статевонезрілих щурів з ХТГ були дифузна білкова гідропічна та зерниста дистрофії. Жирової, такої як у нелікованих тварин, взагалі не спостерігалось.

Що стосується ядер, то вони були різних розмірів з переважанням крупних, з неоднаковою кількістю ядерців та різною орієнтацією хроматину, що нагадувало анізоцитоз та анізонуклеоз. Зустрічались двоядерні гепатоцити, місцями до 5-6 клітин у полі зору. Подібні зміни оцінювались нами, як ознаки регенерації гепатоцитів, тобто як ознаки регенераційної гіпертрофії.

За системою METAVIR ступінь активності некрозапальних процесів у печінці експериментальних тварин, яким вводили есенціалє, дорівнювала в основному A<sub>2</sub>.

Траплялись субедотеліальний набряк та невеликі скупчення лімфоцитів у стінці центральних вен. У просвіті останніх у помірній кількості визначались еритроцити. У синусоїдах, окрім поодиноких еритроцитів, констатована наявність великої кількості десквамованих набухлих клітин Купфера з гіперхромним ядром та ендотеліоцити, а також у великій кількості лімфоцити, які місцями створювали ланцюжки. Звертали увагу багаточисленні дрібні «порожні» септи, представлені окремими міофібробластами та набряковою рідиною (рис. 9.31). Частіше вони орієнтовані у вигляді променів від центральної вени і не досягали портального шляху.

ПКМ через набухання та вакуолізацію гепатоцитів в основному був звужений, місцями – ущільнений через накопичення білкових мас, що може бути наслідком зменшення синтезу тканинної рідини і негативно впливати на стан жовчі та спричиняти її згущення. Траплялись ділянки де ПКМ був розширений накопиченням тканинної прозорої рідини, що може свідчити про компенсаторне нерівномірне посилення її синтезу з метою активації елімінації токсичних продуктів метаболізму. Контури зовнішньої мембрани гепатоцитів були не чіткими і ущільненими, що, на наш погляд, може спонукати розвиток пересинусоїдального та прицелюлярного фіброзу, особливо в умовах проліферації та активації ЗК. На основі отриманих результатів гістологічного дослідження ефективності есенціалє в умовах профілактичного лікування ХТГ у статевонезрілих щурів в експерименті, можна зробити висновок, що даний гепатопротектор має властивості позитивно впливати на обмін ліпідів і

гальмувати розвиток жирової дистрофії печінки. Якщо врахувати той факт, що джерелом ліпідів у гепатоцитах може бути декомпозиція ліпопротеїдів мембран органел, то в даній ситуації можна констатувати наявність в есенціалє мембраностабілізуючої дії. Але, за результатами гістологічних досліджень, при профілактичному лікуванні ХТГ у експериментальних статевонезрілих тварин недостатньо пригнічувалася запальна інфільтрація та проліферативна активність ЗК, які вважаються одними із найважливіших предикторів фіброгенезу. Помірними були і детоксикаційний фармакологічний ефект препарату.

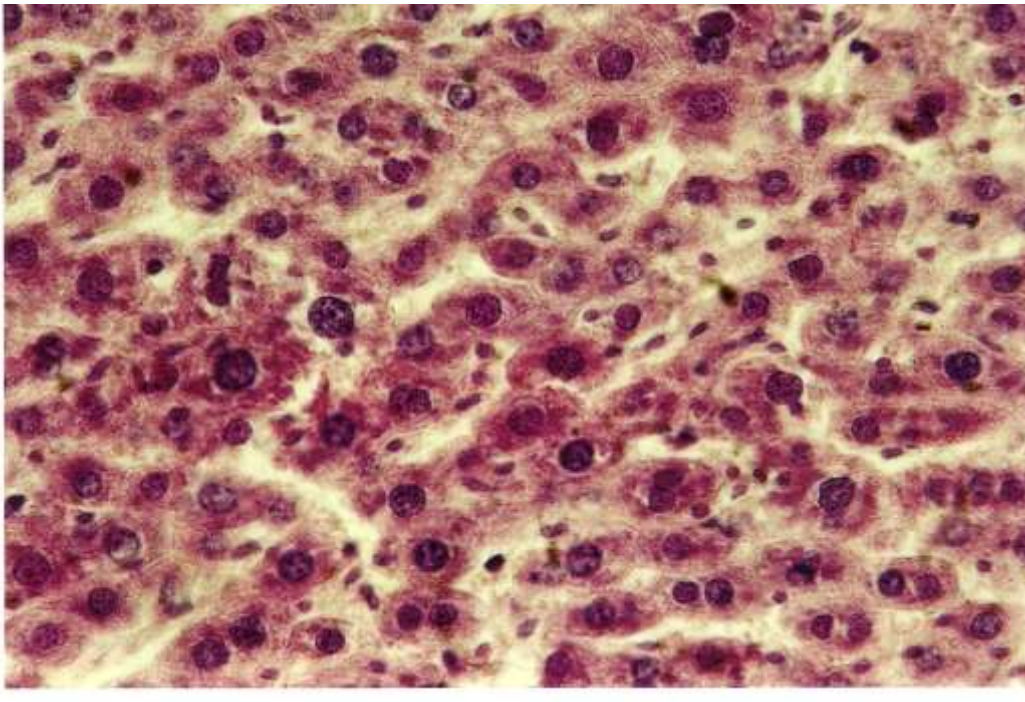


Рис. 9.31. Формування внутрішньочасточкових «порожніх» септ та відновлення структури гепатоцитів. Печінка щура на тлі введення есенціалє, 2 серія експериментів. Збарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

Якщо порівнювати ступінь некрозапальних процесів у печінці статевонезрілих щурів, які отримували профілактичне лікування есенціалє з аналогічним у щурів, які отримували екстракт артишоку, то в останніх при об'єктивізації за системою METAVIR їх активність на порядок вища –  $A_{2-3}$

проти  $A_{1-2}$  у тварин, які отримували есенціалє. Також слід відмітити, що за ефективністю рослинний гепатопротектор дарсіл теж поступається есенціалє.

Застосування есенціалє в якості антифіброзного засобу (III серія експериментів) за результатами гістологічних досліджень проявило деякі позитивні результати, які полягали у тому, що у порівнянні із результатами отриманими при лікувально-профілактичному введенні препарату, значно послабились альтеративні та ексудативні процеси. Набряку у портальних шляхах практично не спостерігалось. Запальні інфільтрати представлені в основному міофібробластами, які, вочевидь, переважали над макрофагами та лімфоцитами. Перипортальні некрози траплялись вкрай рідко, а внутрішньочасточкові були відсутні, що свідчить про відновлення процесів метаболізму. Значно зменшилась інтенсивність і поширеність гідропічної дистрофії. Покращився стан контурів пограничної пластинки. Проте змінився стан портальних шляхів за рахунок збільшення кількості колагенових волокон, що краще помітно при фарбуванні зрізів за ван Гізон. Внутрішньочасточкові сполучнотканинні септи стали не «порожніми», а вузькими і щільними, тому що у них місцями визначались ніжні колагенові волокна. Натомість кількість ЗК значно зменшилась і вони набули виду фібробластів. В печінці тварин даної групи дослідів виявлено значну активність регенераційних процесів, що підтверджувалось збільшенням кількості паренхіматозних клітин великих розмірів з великими поліплоїдними ядрами та двояхдерних гепатоцитів (рис. 9.32). Але все ж таки мали місце і ознаки недосконалої регенерації, такі як зближення між собою портальних шляхів, облітерація та переміщення із центру часточок на периферію центральних вен, що характерно для розвитку ЦП і відповідає  $F_2 - F_3$  за системою METAVIR.

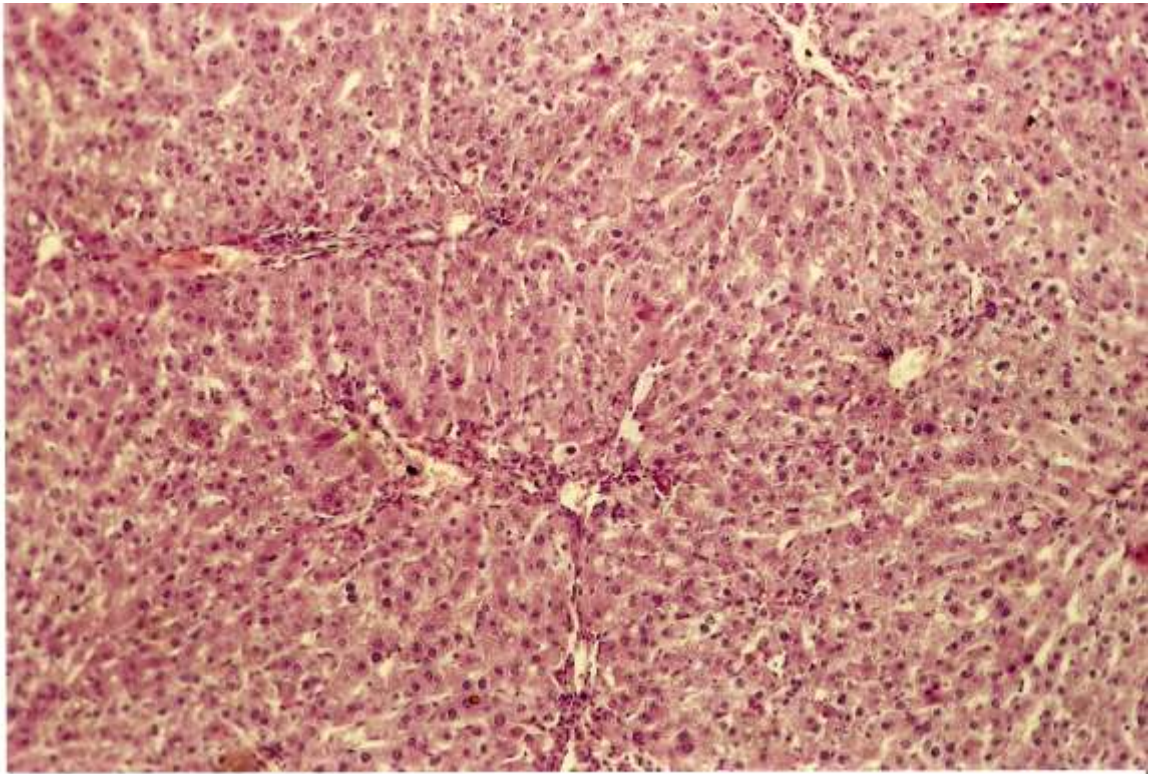


Рис. 9.32. Анізоцитоз та анізонуклеоз регенеруючих гепатоцитів, вогнищеве звуження позаклітинного матриксу без склерозу та значної запальної інфільтрації портальних шляхів. Печінка щура на тлі введення есенціалє, 3 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

Таким чином, застосування есенціалє при експериментальному ХТГ на стадії формування ЦП значно гальмує прогресивність некрозапальних і фіброзних процесів, а також підвищує активність внутрішньоклітинної репарації гепатоцитів і регенерації органу в цілому. Тому він показаний для застосування як на початкових стадіях розвитку ХТГ, так і на стадії розвитку ЦП.

**9.2.7. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором урсохол.** Урсохол є синтетичним стереоізомером хенодезоксихолієвої кислоти, який застосовується в якості гепатопротектора при великому спектрі захворювань печінки і, особливо, при наявності холестатичного компоненту. Механізми фармакологічної ефективності вказаного гепатопротектору досить глибоко вивчені на



біохімічному рівні. Проте робіт, які підтвердили б особливості його лікувальної дії у дітей, недостатньо. Враховуючи особливу чутливість процесів синтезу жовчі та недосконалість механізмів евакуації її протоками у дітей, проведення експериментальних досліджень впливу урсохолу на динаміку морфофункціональних змін в печінці статевонезрілих щурів із моделюваним ХТГ є актуальним. Цікавою буде інформація про місце урсохолу серед інших гепатопротекторів за його фармакологічною ефективністю.

Для з'ясування цих питань, по аналогії з іншими гепатопротекторами, проведено дві серії експериментів з використанням урсохолу для лікувально-профілактичного лікування ХТГ, а також для уточнення ступеня його антифіброзної активності при ЦП.

Гістологічно у печінці статевонезрілих щурів, яким одночасно вводили гепатотоксини та урсохол на протязі шести тижнів встановлено, що жирової дистрофії практично немає, а гідропічна, за поширеністю, наполовину менш розповсюджена у порівнянні з нелікованими тваринами. Друга половина гепатоцитів - у стані зернистої білкової дистрофії, яка, як відомо, може бути оборотною (рис. 9.33). Некроз паренхіматозних клітин траплявся у перипортальних ділянках часточок печінки у вигляді невеликих осередків там, де більш значна інфільтрація портального шляху та порушена цілісність пограничної пластинки. Ці морфофункціональні відмінності підтверджують наявність у препарату мембранозберігаючих властивостей.

Що стосується портальних шляхів, то в них зберігався значний набряк та вогнищева інфільтрація мононуклеарами. Жовчні протоки, їх просвіт та стан епітеліальних клітин при звичайному мікроскопічному дослідженні не мав відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами. У місцях запальної інфільтрації остання локалізована переважно в адвентиції кровоносних магістралей, де визначається також розширення та збільшення кількості лімфатичних судин. У просвіті гілок портальної вени траплявся стаз, субендотеліальний набряк, у просвіті центральних вен – навіть тромбоз. При оглядовій мікроскопії у тканині печінки визначалися численні «порожні» септи,

порто-центральної та «сліпій». Синусоїди, як і простори Діссе, нерівномірно розширені прозорою рідиною. У проясненні синусоїдів визначалися набряклі у великій кількості клітини Купфера, міофібробласти та лімфоцити, останні іноді утворюють ланцюжки. Траплялися балки гепатоцитів з ознаками атрофії зі схильністю до колапсу.

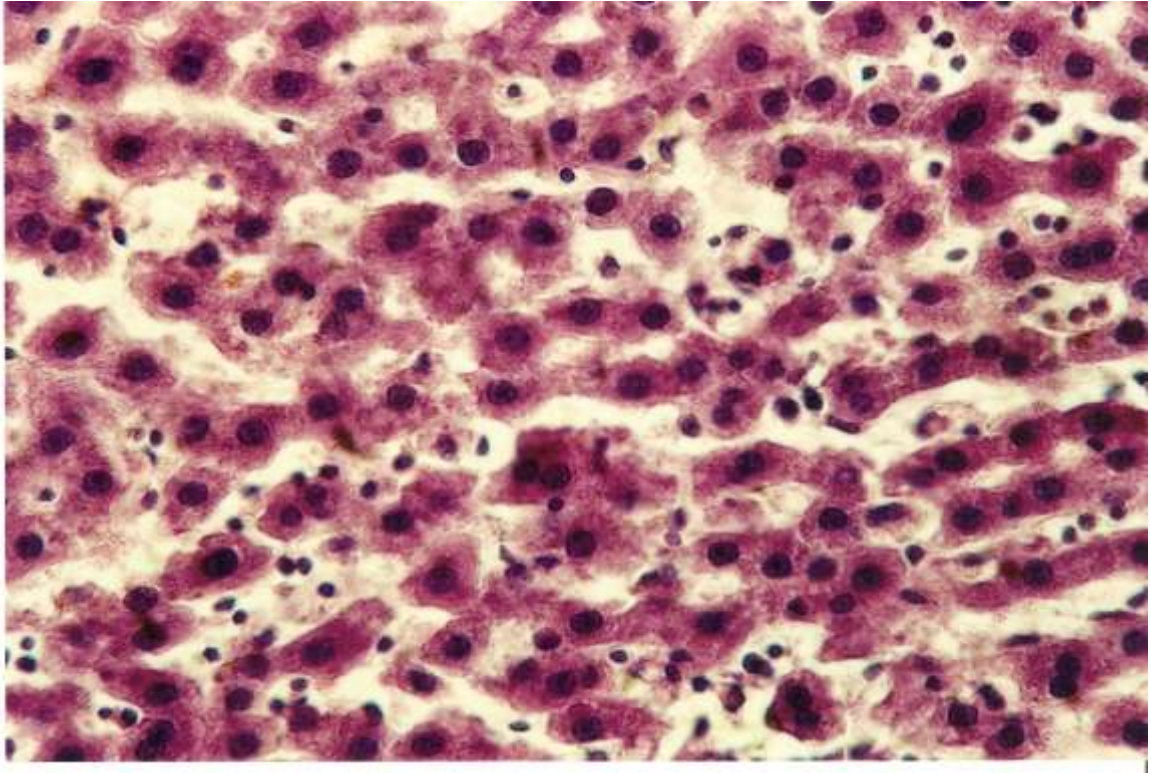


Рис. 9.33. Гіперхромія ядер гепатоцитів, цитоплазма яких нерівномірно еозинофільна, зернисто-глибчаста, на тлі помірного набряку та проліферації клітин Купфера. Печінка щура на тлі введення урсохолу, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксилином і еозином. х 400.

За інтенсивністю набрякових змін печінка експериментальних тварин із ХТГ, яких лікували урсохолом, подібна до такої при введенні антралю в аналогічних умовах, що дає підставу вважати наявність у УДХК стимуляції синтезу лімфи, що може, поряд із іншими патогенетичними механізмами, підсилювати антихолестатичний фармакологічний ефект вказаного гепатопротектора та сприяти елімінації гепатотоксинів.

При застосуванні урсохолу дещо пригнічувалась запальна інфільтрація портальних шляхів та в середині часточок, але цей результат менший, ніж при застосуванні антралю та біциклолу, і може бути опосередкованим.

Стосовно антифіброзної терапії, яка досліджувалась у III серії експериментів, слід відмітити, що у печінці піддослідних тварин, яким вводили урсохол, некродистрофічні зміни у порівнянні з такими у II серії експериментів не посилювались ні за глибиною, ні за розповсюдженням. Проте запальні інфільтрати як у портальних шляхах, так і всередині часточок, траплялись досить часто. За складом клітин у них переважали мононуклеари, сегментоядерних нейтрофілів та еозинофілів не спостерігалось, що дає підставу передбачати участь імунної системи в розвитку запалення. Значно зменшувались ознаки набряку, не виявлено холестазу. В окремих кровоносних судинах портальних шляхів в адвентиції визначались малоклітинні інфільтрати та склероз. Ширина портальних шляхів значно зменшувалась, погранична пластинка в основному була чітко окреслена, але в портальних шляхах чітко визначався склероз та ущільнення СТ через збільшення кількості колагенових волокон, траплялись порто-портальні та порто-центральної септи, які фрагментували часточки. Перицелюлярний фіброз траплявся рідко. Досить виразні процеси регенерації гепатоцитів, які формували балки, та не завжди мали правильну орієнтацію через зміщення або відсутність центральної вени. Траплялись скупчення двохядерних та гіпертрофованих гепатоцитів. Фіброз печінки за системою METAVIR відповідав за F<sub>2</sub>-F<sub>3</sub>, що менше у порівнянні з нелікованими тваринами.

На нашу думку, антифіброзний ефект препарату урсохол полягає у суттєвому пригніченні таких предикторів фіброзу, як холестаз, крововиливи, набряк, альтеративні зміни, та в меншому ступені – запальну інфільтрацію.

**9.2.8. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гепатопротектором тіотриазолін.** Оцінка лікувальних властивостей вітчизняного синтетичного препарату з гепатопротекторними властивостями тіотриазолін проводилась у порівняльному аспекті з такими у



антралю та глютаргіну. Так, набряк портальних шляхів та розширення просвіту синусоїдів та просторів Діссе при застосуванні тіотриазоліну при ХТГ у статевонезрілих щурів були дещо меншими, ніж у тварин, які отримували антраль, але більш виразними у порівнянні з застосуванням глютаргіну. Звертали увагу внутрішньоорганні розлади кровообігу при використанні тіотриазоліну, які полягали у нерівномірному розширенні просвіту внутрішньопечінкових вен, особливо окремих гілок портальної вени. У них спостерігали стаз крові та субендотеліальний набряк. У дрібних судинах мало місце крайове розташування нейтрофільних лейкоцитів з еміграцією в навколишні тканини портального шляху. При цьому суттєвих структурних відмінностей у структурі жовчних проток не виявлено. Траплялись дрібні геморагічні екстравазати за типом геморагічного просочування у паренхімі печінки, які не мали чітких закономірностей, крім того, у таких місцях були виявлені клітини строми з накопиченням гемосидерину.

На відміну від глютаргіну, застосування тіотриазоліну в якості лікувально-профілактичного засобу при лікуванні ХТГ у статевонезрілих щурів не блокувало розвиток жирової дистрофії повністю, яка зберігалась і носила дрібновакуольний характер та визначалась в окремих тварин (рис. 9.34). За інтенсивністю та поширенням вона була не постійною, і меншою, ніж при застосуванні антралю. Натомість гідропічна дистрофія у деяких тварин носила дифузний характер і місцями завершувалась розвитком колікваційного некрозу. Останній локалізувався і перипортально, і всередині часточок у вигляді дрібних осередків чи окремих гепатоцитів.

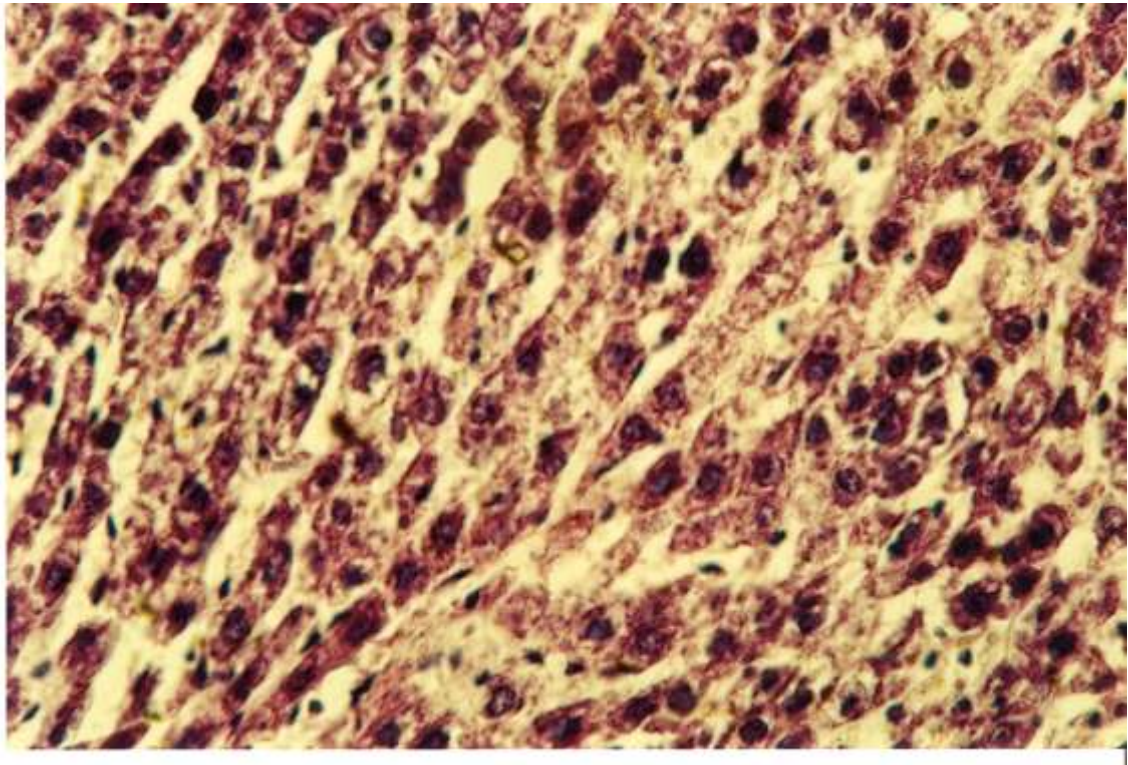


Рис. 9.34. Жирова та гідропічна дистрофія гепатоцитів на тлі набряку строми та часткового колапсу печінкових балок. Печінка щура на тлі введення тіотриазоліну, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 400.

Ядра дистрофічно змінених гепатоцитів були гіперхромними через конденсацію хроматину. Розсіяно (1-3 в полі зору) траплялись клітини із підвищеною оксифільністю цитоплазми та деформованим або фрагментованим ядром, контури якого були не чіткими, тобто такі, що перебували в процесі апоптозу. ПКМ переважно був прозорим. Скупчення фібрилярних мас, як предикторів перицелюлярного склерозу, виявлялись рідко.

У місцях некрозу гепатоцитів відмічали скупчення макрофагів та великих (активних) лімфоцитів. Останні іноді визначались у цитоплазмі гепатоцитів, які мали деформовані чи фрагментовані ядра. Траплялись скупчення лімфоцитів у вигляді ланцюжків у просвіті синусоїдів. Клітини Купфера набухали. Мали місце їх проліферація та диференціювання в міофібробласти.

Гістологічно досить часто виявлялись «порожні» септи, в яких колагенові волокна за ван Гізоном не виявлялись, натомість спостерігалась мультиплікація

аргірофільних волокон. В цілому активність некрозапальних процесів у печінці при лікувально-профілактичному лікуванні ХТГ вказаним гепатопротектором в експерименті відповідала  $A_2$  за системою METAVIR.

Поряд із альтеративними процесами на тлі лікування тіотриазоліном спостерігались ознаки репарації гепатоцитів. Вони полягали у збільшенні кількості двояхдерних гепатоцитів (до 4 в полі зору) та гіпертрофії паренхіматозних клітин. Останні майже у два рази перевищували об'єм звичайних гепатоцитів, мали велике ядро та більше двох ядерець. Локалізувались вони частіше поряд з некротизованими клітинами. У таких ділянках спостерігали анізоцитоз та анізонуклеоз гепатоцитів. Регенераційна гіпертрофія гепатоцитів гістологічно виявлена не у всіх тварин, тому мала непостійний характер. Характерною була монотонність структури гепатоцитів та їх ядер на тлі помірного набряку та холестазу, що може свідчити про функціональну виснаженість спеціалізованих клітин (рис. 9.35).

Завершуючи аналіз лікувально-профілактичної ефективності тіотриазоліну при ХТГ у статевонезрілих щурів можна стверджувати, що даний синтетичний препарат має певні гепатопротекторні властивості. Він хоч і незначно, але гальмує некрозапальні процеси в печінці, пригнічує розвиток предикторів перисинусоїдального та перицелюлярного фіброзу, стимулює репарацію гепатоцитів.

Відносно антифіброзного ефекту тіотриазоліну при гістологічному дослідженні печінки встановлено, що з припиненням введення гепатотоксинів фармакологічний вплив препарату на репараційні процеси значно посилювався у порівнянні із лікувально-профілактичним введенням. У всіх тварин значно зменшились альтеративні процеси. Жирової дистрофії не було у жодному випадку. Не спостерігалось внутрішньочасточкових некрозів, а перипортальні – носили періодичний характер. Запальна інфільтрація портальних шляхів представлена лімфоцитами та переважно міофібробластами і стала менш інтенсивною. Портальні шляхи стали вужчими та дещо більш щільними завдяки зменшенню набряку та активності запалення. Васкуліту, стазу та

тромбозу в кровоносних судинах у даному фрагменті експерименту не виявлено. Ознаки ушкодження полягали лише в наявності осередків помірно виразної гідропічної дистрофії без забруднення ПКМ еозинофільними безструктурними масами. Активність некрозапальних процесів знизилась з  $A_3$  до  $A_{1-2}$  за системою METAVIR. Вказані ознаки фармакологічної позитивної дії тіотриазоліну ще більш виразні у порівнянні з такими, які гістологічно виявлялись у нелікованих тварин.

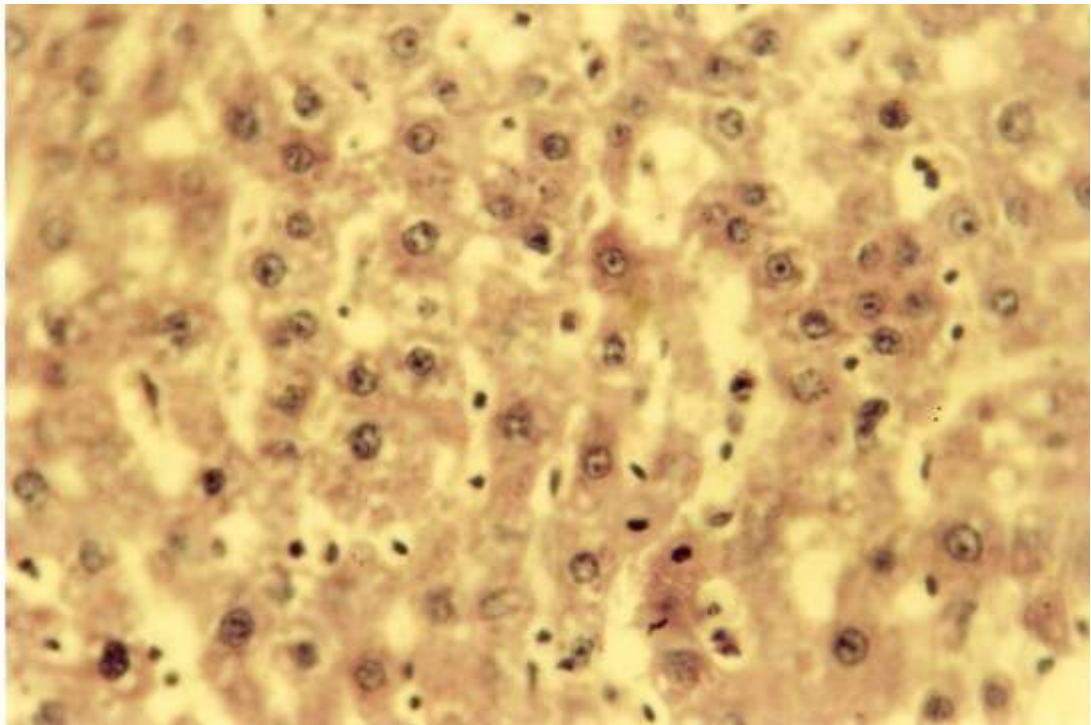


Рис. 9.35. Структурно-функціональна монотонність дистрофічно змінених гепатоцитів та їх ядер. Печінка щура на тлі введення тіотриазоліну, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 400$ .

Помітно активізувались регенераційні процеси. В одному полі зору кількість двояхдерних гепатоцитів іноді сягала 5–6. Зустрічалися групи гепатоцитів з ознаками гіпертрофії, тобто великих розмірів з великим ядром. Антифіброзна дія тіотриазоліну, безумовно, позитивна, але, на наш погляд, непряма і зумовлена пригніченням запальних процесів, покращенням метаболізму. У зрізах печінки, зафарбованих за ван Гізон, виявляється значна кількість колагенових волокон, які місцями щільно оточують кровоносні

магістралі та жовчні протоки. Зменшується просвіт, і, особливо, кількість лімфатичних судин. Спостерігається зближення портальних шляхів між собою та подекуди формування СТ у вигляді порто-центрального септ. За системою METAVIR фіброзні зміни відповідають F<sub>2</sub>.

**9.2.9. Морфологічні зміни печінки при патогенетичній терапії ХТГ у статевонезрілих щурів гомеопатичним препаратом галстена.** При дослідженні лікувально-профілактичного впливу галстени встановлено, що морфологічні зміни печінки майже не відрізнялись від таких у нелікованих тварин. Архітектоніка часточкової будови органу не порушена. Але портальні шляхи розширені за рахунок набряку та помірної запальної інфільтрації мононуклеарами, яка, як і у нелікованих тварин, мала рівномірний характер, лише у меншому ступені виразності. У просвіті кровоносних магістралей визначались ознаки стазу, а в деяких дрібних гілках портальної вени і тромбозу. В центральних венах траплялись ознаки васкуліту. Мали місце непоширені перипортальні та портоцентральні некрози із скупченнями навколо дистрофічно і некротично змінених гепатоцитів великих лімфоцитів та макрофагів, що може свідчити про ознаки імунного цитолізу. Проте у гепатоцитах переважали дистрофічні зміни – поєднання гідропічної та жирової дистрофії (рис. 9.36). Про незначну репараційну дію препарату свідчила наявність великих осередків зернистої дистрофії, яка відрізнялась від попередніх відсутністю перинуклеарного просвітлення цитоплазми. Ядра гепатоцитів були переважно нормохромними та гіперхромними з чіткими контурами, з двома і більше ядерецями. Всередині часточок виявлялись численні «порожні», а місцями і щільні, септи СТ, в яких рідко визначались колагенові волокна при фарбуванні зрізів за ван Гізон. У розширених просвітах синусоїдів виявлялись скупчення лімфоцитів, набряклі клітини Купфера, які місцями десквамували і вільно розміщувались у просвіті.

Невисокі протекторні властивості препарату підтверджувались недостатньою нормалізацією органовідновних процесів у печінці, про що

свідчило значне зниження активності СДГ при обробці заморожених зрізів печінки за Нахласом (рис. 9.37).

Таким чином, на тлі хронічної токсичної дії  $CCl_4$  та етанолу у статевонезрілих щурів застосування галстени є не досить ефективним, і полягає у помірній протизапальній дії та в деякій стимуляції процесів регенерації паренхіматозних клітин.

Морфологічні ознаки позитивної дії галстени краще проявлялися у печінці тварин після припинення введення гепатотоксинів і на тлі суттєвого фіброзу органу, тобто при вивченні антифіброзного ефекту препарату. Вони полягали у зменшенні інтенсивності набряку та запальної інфільтрації портальних шляхів. Місцями відновлювалась чіткість межі пограничної пластинки, як наслідок зниження перипортального некрозу гепатоцитів. Загалом зміни альтеративного характеру проявлялись у вигляді осередків гідропічної дистрофії. Жирова дистрофія мала обмежений характер у вигляді дрібних вакуолей. «Порожніх» сполучнотканинних септ практично не виявлено, натомість визначались щільні сполучнотканинні порто-портальні, порто-центральні та «сліпі» септи, в яких виявлено багато фібробластів, а при фарбуванні за ван Гізон – колагенові волокна. Траплялась фрагментація часточок внаслідок патологічної регенерації СТ з формуванням вузлів-регенератів без центральних вен. Ознаки регенерації гепатоцитів мали місце в більшості полів зору і проявлялись наявністю двохядерних гепатоцитів та великих клітин з гіперхромними поліплоїдними ядрами.

Отже, галстена, як гомеопатичний препарат з гепатопротекторами властивостями, має певні мембраностабілізуючі, метаболічні та регенераційні позитивні фармакологічні ефекти, тому може бути використаний, як лікувальний засіб ХТГ на стадії формування ЦП.



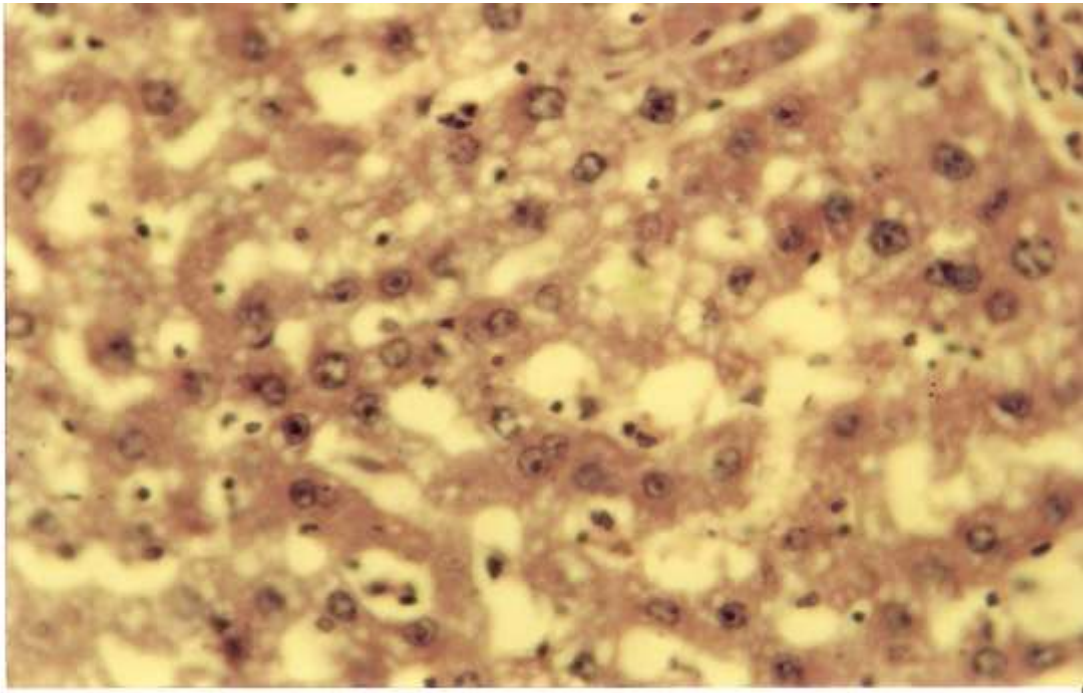


Рис. 9.36. Жирова у поєднанні з білковою гідролічною дистрофією гепатоцитів, ядра яких різних розмірів, на тлі нерівномірного набряку. Печінка щура на тлі введення галстени, 2 серія експериментів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 400.

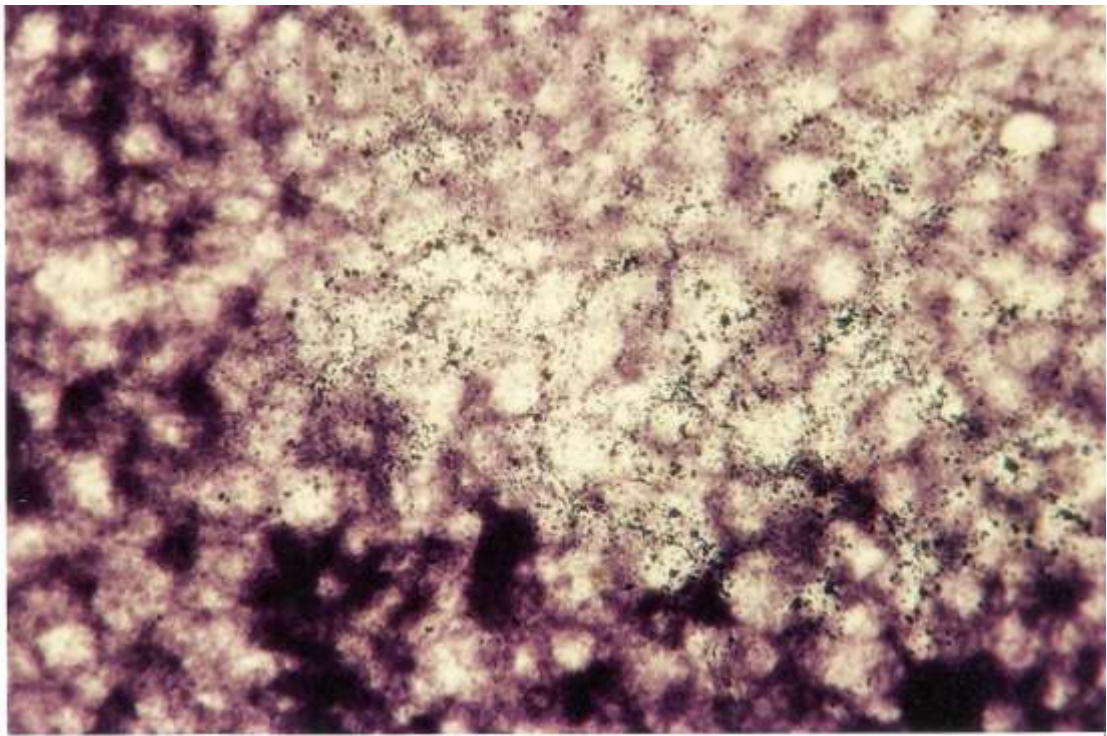


Рис. 9.37. Нерівномірний розподіл активності СДГ в печінці. Печінка щура 2 серії експериментів на тлі введення галстени. Зрізи оброблені за Нахласом. x 400.

## Резюме

Отже, на основі проведених морфологічних досліджень вперше встановлено, що при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів розвивається значне порушення лімфообігу у вигляді набряку, збільшення кількості функціонуючих лімфатичних судин та розвитком лімфангіектазій, яке суттєво може впливати на структурно-функціональний стан гепатоцитів та фіброгенез у печінці, а тому потребує лікувальної корекції.

Адекватність моделі ХТГ у статевонезрілих щурів, який моделювався протягом шести тижнів введенням  $CCl_4$  та етанолу, підтверджують розвиток значного набряку (порушення лімфообігу), васкулітів, помірних дистрофічно-некротичних змін та виразної запальної інфільтрації, а також ознак імунного цитолізу.

В умовах лікувально-профілактичного введення вітчизняного синтетичного гепатопротектору антраль зареєстровані позитивні фармакологічні ефекти, які полягають у зменшенні виразності альтеративних змін (дистрофії та некрозу), пригніченні запального процесу, відсутності холестазу. Слід відмітити значні детоксикаційні, мембраностабілізуючі, протизапальні, регенераційні та досить помірні антифіброзні ефекти у даного препарату.

Екстракт артишоку, як гепатопротектор, має незначні протизапальні та антифіброзні властивості, але все ж таки позитивно впливає на метаболізм, дещо пригнічує розвиток жирової дистрофії та регенерацію. Він суттєво гальмує синтез тканинної рідини і розвиток набряку, а цей процес може позитивно впливати на евакуацію жовчі та сприяти антихолестазу.

Біциклол є одним із найбільш ефективних гепатопротекторів, який проявляє суттєві фармакологічні ефекти, що полягають у протизапальній, детоксикаційній, мембраностабілізуючій, антицитолітичній діях. Препарат значно стимулює регенерацію та проявляє антифіброзні властивості і може застосовуватись у педіатричній практиці, як під час загострення ХГ, так і при розвитку ЦП.



Введення статевонезрілим щурам із ХТГ препарату глутаргін гістологічно проявилось покращенням мікроциркуляції, процесів метаболізму у печінці, в першу чергу, нормалізацією ліпідного обміну, зменшенням дистрофії та некрозу, стимуляцією регенерації, тобто препарат виявляє детоксикаційну та мембранозберігаючу дію. Але низький протизапальний ефект, а також здатність посилювати апоптоз гепатоцитів, обмежує, на нашу думку, застосування гепатопротектору у дітей.

Фармакологічні ефекти рослинного гепатопротектору дарсил є близькими до таких у артишоку, тобто препарат володіє помірним протекторним ефектом, що полягає у помірній стимуляції регенерації ушкодженого органу, а також у деякій антифіброзній дії.

Введення піддослідним тваринам есенціалє з лікувально-профілактичною метою проявляє хороші протекторні мембраностабілізуючі властивості ЕФ, що проявлялися збереженням архітектоніки печінки, зменшенням набряку, некрозапальної активності та дистрофії. Застосування есенціалє при експериментальному ХТГ на стадії формування ЦП значно гальмує прогресивність некрозапальних і фіброзних процесів та підвищує активність внутрішньоклітинної репарації гепатоцитів і регенерації органу в цілому. Тому він показаний для застосування як на початкових стадіях розвитку ХТГ, так і на стадії розвитку ЦП навіть у дітей.

Вітчизняний синтетичний препарат тіотриазолін проявляє незначну детоксикаційну, мембраностабілізуючу, протизапальну та помірну антифіброзну дію, про що свідчить наявність некродистрофічних змін у паренхіматозних клітинах, проте суттєво активізує регенерацію спеціалізованих диплоїдних гепатоцитів ушкодженого органу.

Препарат урсохол проявив високі протекторні властивості, зокрема детоксикаційні, мембраностабілізуючі, антицитолітичні, антихолестатичні, що полягали у мінімізації некротичних та дистрофічних змін у гепатоцитах. Протизапальна дія препарату помірною, поступається такій у антралю та біциклолу. Проте препарат має достатній антифіброзний ефект, що, на нашу

думку, полягає у суттєвому пригніченні таких предикторів фіброзу, як холестази, крововиливи, набряк, альтеративні зміни.

Галстена, як гомеопатичний препарат з гепатопротекторами властивостями, має досить помірний протизапальний, мембраностабілізуючий, метаболічний, антифіброзний та регенераційний фармакологічні ефекти, які краще проявляються при тривалому застосуванні, тому може бути використаний, як лікувальний засіб, при лікуванні хронічного гепатиту, у тому числі на стадії формування ЦП.

Через чотирнадцять тижнів від початку експерименту, після шести тижневого «відпочинку», у печінці піддослідних щурів характерними ознаками ЦП, що сформувався на тлі ХТГ, є склероз портальних шляхів, наявність сполучнотканинних септ, облітерація центральних вен та формування псевдокапсул. Спонтанна регенерація у даних тварин відбувається переважно за рахунок поліплоїдизації та гіпертрофії гепатоцитів. Застосування у них таких гепатопротекторів, як антраль та біциклол, суттєво зменшує виразність фіброзу печінки, дещо у меншій мірі – урсохол, ессенціале та глутаргін, що дозволяє рекомендувати призначення даних препаратів при хронічних гепатитах для профілактики фіброзу печінки, у тому числі на стадії сформованого ЦП, для попередження його прогресивності та прогресування гепатоцелюлярної недостатності.

Матеріали цього розділу висвітлено в наступних роботах : [118, 121, 122, 173, 182].

## РОЗДІЛ 10

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічний перебіг і наслідки ХВГ у дітей залежать від часу і шляху інфікування. В наших спостереженнях інфікування HBV та HCV у дітей найчастіше відбувалось перинатально (23,5 %), на другому місці – парентерально при проведенні оперативних та інших втручань (20,4 %), особливо, при введенні препаратів крові (16,3 %). Слід відмітити, що у кожної третьої дитини ймовірний шлях і час інфікування не був з'ясований. Отримані результати є подібними до описаних у літературі. Так [234] вказують, що у 40 % випадків інфікування HBV відбувається в перинатальному періоді, а у 35 % - в інші періоди дитинства. Інші автори [145, 449] констатують, що у країнах Європи переважає «вертикальний» шлях передачі HCV (46,1–56,2 %), на другому місці – парентеральний шлях при переливанні препаратів крові та проведенні медичних маніпуляцій (23,1-31,3 %), та у 12,5-21,5 % - шлях інфікування невідомий.

У нашому дослідженні із дітей диспансерної групи, хворих на ХВГ В – 39,8 %, на ХВГ С – 60,2 %. У переважної кількості хворих (68,4 %) методом ПЛР у крові було виявлено ДНК HBV або РНК HCV, тобто вірус знаходився у фазі реплікації. Отримані результати узгоджуються з даними [17], щодо наявності ФР вірусу у 67,3% дітей з ХВГ В та у 75,2% – з ХВГ С, а також з даними [97], відповідно до яких ФР діагностовано у 72,3 % дітей із ХВГ В, ФІ – у 27,7 %.

Серед хворих на ХВГ переважали діти шкільного віку (63,27 %), зокрема кількість хворих підлітків склала 44,9 % випадків, що узгоджується з даними літератури [17, 37, 55], які вказують на те, що ХВГ зустрічаються переважно у дітей шкільного віку (84,6 % – ХВГ В, 85,2% – ХВГ С) з тенденцією до переважання хворих середнього та старшого шкільного віку, що пов'язують зі змінами гормонального фону в пубертатному періоді. Вікові особливості розподілу хворих полягають у переважанні первинно-хронічного перебігу ХВГ

у дітей, що, на думку [17], зумовлено особливостями їх імунного статусу, який сприяє латентному перебігу інфекції та хронізації патологічного процесу в печінці і уподібнює ХВГ до «повільних» інфекцій. Це свідчить про тривалу компенсацію функціонального стану печінки при даній патології [17, 27, 49, 55] та підтверджується випадковим встановленням діагнозу у більшості обстежених нами хворих.

Нами встановлено, що на ХВГ хворіють переважно хлопчики (n=58, 59,2 %), а дівчатка – рідше (n=40, 40,8 %), що пов'язано з імуносупресивним впливом андрогенів [17, 110, 213, 260]. З літературних джерел відомо [432], що чоловіча стать є доведеним фактором прогресування ХВГ.

При аналізі активності запального процесу у печінці, яка встановлювалась за показником АЛТ [234], у 53,3 % хворих зареєстрована мінімальна активність, у 12,2 % – низька, у 10,2 % – помірна, і лише у 7,1 % – висока. Відсутність біохімічної активності мала місце у 17,3 % хворих. Тобто, ХВГ у дітей, як правило, характеризуються незначною активністю запального процесу, що узгоджується з даними як вітчизняних [17], так і зарубіжних [385] авторів.

Нами не встановлено суттєвих відмінностей ступеня активності запального процесу від етіології ХГ. Як у хворих з ХВГ В, так і з ХВГ С у більшості хворих активність запального процесу була мінімальною, що склало відповідно 59,0 % та 49,0 % випадків.

Встановлено, що активність запального процесу у печінці залежить від фази реплікації вірусу. Так у хворих на тлі ФІ вірусу запальний процес частіше характеризувався мінімальною активністю (61,3 %), а у 22,6 % дітей вона взагалі була відсутня. При ФР також переважала мінімальна активність (49,3 %), проте слід підкреслити, що лише у дітей з реплікацією вірусу (10,5 %) реєструвалась висока активність запального процесу. Тоді як у ФІ НВВ-інфекції та ЛС НСV-інфекції високої активності не спостерігалось. Тобто, більш інтенсивне руйнування гепатоцитів, яке біохімічно проявляється ЦС,

основним індикатором якого є зростання активності АЛТ у сироватці крові, закономірно виникає при активній реплікації вірусу.

На основі проведеного патогенетичного аналізу основних клінічних та параклінічних показників ми встановили, що їх виразність у дітей, хворих на ХВГ, залежить від реплікативної активності вірусу. Так основні клінічні симптоми, як диспептичний, абдомінальний, гепатоспленомегалія (як прояв активності процесу та внутрішньопечінкових гемодинамічних розладів), а також анемія та тромбоцитопенія, як прояви гіперспленізму, були більш виразними у хворих із ФР вірусу, ніж у дітей, в яких HBV перебував у ФІ, а HCV – у ЛС, що носило достовірну різницю. Наведені факти засвідчують вплив активної реплікації вірусу на патологічні зміни запального, дистрофічного та гемодинамічного характеру, які відбуваються у печінці та селезінці на тлі ХВГ.

Ми погоджуємось з даними [97], які стверджують, що у ФІ у більшості випадків перебіг є безсимптомний та доброякісний. Але прояви абдомінального та жовтяничного синдромів частіше траплялися при реплікативному типі і склали відповідно 61,8 % та 55,9 %. Подібна закономірність стосувалась і гепатомегалії.

Аналізуючи біохімічні показники сироватки крові, хворих на ХВГ дітей, теж встановлена їх залежність від фази інфекційного процесу. Так у ФР вірусу більшість біохімічних показників, що досліджувалися, зазнала суттєвих патологічних зрушень порівняно із ФІ/ЛС.

У більшості пацієнтів при біохімічному дослідженні крові визначався помірно високий рівень загального білірубіну. Зростання прямої фракції відбувалось як у ФР, так і у ФІ, а вміст непрямого білірубіну на 41,2 % був достовірно вищим у сироватці пацієнтів, вірус в яких знаходився у ФР, ніж у тих, у кого зареєстрована ФІ/ЛС ( $p < 0,05$ ). За посилення синдрому холестазу у ФР порівняно з ФІ також свідчило достовірне зростання активності ЛФ на 24,9 % ( $p < 0,05$ ), ГГТП – на 29,6 % ( $p > 0,05$ ), вмісту холестеролу – на 43,1 % ( $p < 0,001$ ).

Результати біохімічних показників в обстежених дітей виявили синдром цитолізу – порушення проникливої здатності мембран гепатоцитів та їхніх органел, що зумовлює виділення складових частин клітини в міжклітинний простір та кров. Маркерами ЦС є активність трансаміназ, яка достовірно зростала у хворих дітей порівняно з контрольною групою. Активність АЛТ у ФР вірусу достовірно перевищувала таку у ФІ/ЛС на 50,7 % ( $p < 0,01$ ), АСТ – у 2,3 рази ( $p < 0,001$ ).

При визначенні типу цитолізу гепатоцитів за допомогою обчислення КДР теж встановлена його залежність від фази реплікації вірусу. Зокрема у 90,3 % хворих на ХВГ, в яких інфекційний процес знаходився у ФІ вірусу, відбувався запальний тип цитолізу, оскільки коефіцієнт Де Рітиса складав  $< 1$ . Тоді як КДР  $\geq 1$  реєструвався у 43,3 % випадків при ФР та лише у 9,7 % – у ФІ, що свідчить про переважання некротичного типу цитолізу над запальним у контингенту хворих із ФР.

У літературі [17] описано, що МЗС, який характеризується підвищенням тимолової проби, зустрічається у хворих з високо та помірно активним гепатитом. На думку автора, у половини дітей з неактивним ХВГ В та С у ФР вірусу мають місце прояви даного синдрому, а синдроми печінково-клітинної недостатності (у вигляді незначного зниження рівня альбуміну) та холестазу (гіпербілірубінемія) зустрічаються у половини хворих з високоактивним гепатитом, та у третини – з помірно активним.

Ми ж встановили, що виразність МЗС у дітей, хворих на ХВГ, в першу чергу, залежить від фази реплікації вірусу. Так у дітей із ФР біохімічні прояви даного синдрому є більш інтенсивними, про що свідчить достовірне зростання тимолової проби на 55,3 % ( $p < 0,01$ ), зниження – сулемової на 14,4 % ( $p < 0,05$ ) порівняно із такими у ФІ. Враховуючи дані результати, можна стверджувати, що незважаючи на активність ХВГ, у ФР вірусу відбувається прогресивний перебіг патологічного процесу у печінці з наступним розвитком фіброзу, оскільки, за рекомендацією [17], підвищення тимолової проби більше 1,5 норм є непрямим показником стадії фіброзу F2-F3.

Синдром печінково-клітинної недостатності свідчить про зниження синтетичної, метаболічної та дезінтоксикаційної функції і проявляється диспротеїнемією, а також змінами показників коагулограми. Визначення даних показників дає можливість оцінити ступінь компенсації функцій печінки. Виявлене нами у хворих із ФР достовірне і більш виразне зменшення кількості фібриногену (38,2 %,  $p < 0,001$ ), протромбінового індексу (14,9 %,  $p < 0,05$ ), А/Г коефіцієнту (31,0 %,  $p < 0,05$ ), а також збільшення кількості сечовини (62,2 %,  $p < 0,05$ ) свідчить про зменшення кількості функціонально повноцінних гепатоцитів. Вміст загального білка не зменшувався, а в окремих випадках мала місце тенденція до збільшення, що обумовлено, на наш погляд, гіпергамаглобулінемією, яка характеризує МЗС. У багатьох хворих розвивалась схильність до гіпоглікемії, яка пов'язана із порушенням глікогенсинтезуючої функції печінки, а також зменшенням запасів глікогену.

Отримані результати не узгоджуються з даними [17, 97], які вказують, що показники гепатопривного синдрому (зменшення кількості фібриногену) та МЗС (збільшення тимолової проби), не залежать від фази реплікації вірусу, а також мало відрізняються від таких у здорових дітей, тобто функціональний стан печінки є компенсованим.

На основі проведеного патогенетичного аналізу основних клінічних та біохімічних синдромів ХВГ у дітей у віковому аспекті, нами встановлено ряд особливостей. Так у дітей першого року життя інфікування як НВВ (50,0 %), так і НСВ (50,0 %), відбувалося перинатально і характеризувалося розвитком ПХВГ. Відомо [91, 234, 375, 496], що при перинатальному шляху інфікування ПХВГ розвивається у 90 % дітей з прогресивним перебігом, високою загрозою розвитку ЦП і/або ГЦК, незалежно від клінічних проявів хвороби в перші місяці життя. Слід відмітити, що ранній ЦП розвивається лише у дітей, які інфіковані перинатально [308].

Отримані результати не суперечать літературним даним [26, 234], відповідно до яких у дітей першого року, хворих на ВГ, у 53,1-36,6 %

діагностується HBV-інфекція, у 31,2-41,5 % – HCV-інфекція, із них у 50-64,7 % формується ПХВГ.

Враховуючи те, що усі діти першого року життя, а також половина дітей, віком від 1 до 4 років, із ХВГ інфіковані перинатально, без перебільшення можна сказати, що в Україні домінуючим шляхом інфікування дітей HBV є «вертикальний» – від матері до дитини, що перекликається з даними [6, 71], які вказують, що передача HBV від матері до дитини здійснюється під час пологів у 40-95 % випадків, HCV – в середньому у 5-10 % випадків та залежить від інтенсивності епідеміологічного процесу в регіоні. Відомо, у більшості перинатально інфікованих дітей реєструється періодично чи постійно підвищений рівень трансаміназ, особливо протягом перших двох років життя [351].

У наших спостереженнях у дітей грудного віку характерною була активна реплікація вірусу у 100 % випадків. Незважаючи на це, активність запального процесу здебільшого була низькою (50,0 %) чи помірною (30,0 %). Клінічний перебіг ХВГ характеризувався диспептичним (80,0 %), рідше – абдомінальним (20,0%) синдромом, ізольованим збільшенням печінки (30,0 %) чи гепатоспленомегалією (30 %). У всіх дітей розвивалась анемія. Помірно виразна клінічна симптоматика ПХГ, як при вродженому ВГ В, так і при ВГ С, обумовлена повною імунотолерантністю зі слабо виразним імунним цитолізмом гепатоцитів, що робить неможливою елімінацію HBV та HCV. Отже, ми встановили, що патогенез ПХВГ безпосередньо пов'язаний із механізмами інфікування даних дітей.

За даними Л. В. Мороз (2002) в Україні відмічається високий рівень інфікованості вагітних вірусами гепатитів В (24,3 %) і С (4,2 %) [126]. Інфікування дитини HBV відбувається інтранатально при проходженні плода по пологових шляхах, рідше – трансплацентарно. Персистуюча HBs-антигенемія на тлі, як правило, відсутнього HBeAg пояснюють частою мутацією HBV з утворенням «диких» і мутантних штамів, а також селекцією HBe«-» штамів. По-друге, HBeAg можуть зв'язуватися материнськими анти-



НВе, що проникають трансплацентарно. Обидва названі механізми забезпечують слабку клінічну маніфестацію, повну імунотолерантність і розглядаються як маркери хронізації та несприятливого прогнозу [308, 317].

Аналізуючи біохімічні показники у дітей першого року, загалом хочеться відмітити незначні зміни у більшості із них. Серед біохімічних синдромів у дітей першої вікової групи на перший план виходить холемічний, менш виразними є цитолітичний, мезенхімального запалення та гепатопривний. Свідченням переважання ХС було зростання активності ЛФ у 2,7 рази ( $p < 0,001$ ), ГГТП – у 2 рази ( $p < 0,001$ ), збільшення кількості холестеролу на 24,0 % ( $p < 0,05$ ). Як вказувалось вище, ЦС, маркером якого є активність трансаміназ, у дітей віком до одного року виразний слабо, проте слід відмітити переважання некротичного типу цитолізу над запальним у дітей даного віку, у порівнянні з другою та третьою віковими групами. Патологічні зміни осадочних реакцій свідчать про наявність МЗС у 50 %. Гепатопривний синдром, який проявляється порушенням білоксинтезуючої функції у вигляді диспротеїнемії, підтверджувався зниженням А/Г коефіцієнту та кількості фібриногену на 40 % (відповідно  $p < 0,001$  та  $p < 0,01$ ), а також протромбінового індексу на 23 % ( $p < 0,001$ ). Мала місце тенденція до гіпоглікемії у пацієнтів даної групи.

Діти віком від 1 до 4 років частіше перебували на диспансерному спостереженні з приводу ХВГ С (62,5 %), рідше – ХВГ В (37,5 %). У 75,0 % діагностовано ФР вірусу. У дітей даного віку із ХВГ на першому місці домінували клінічні прояви диспептичного синдрому (100 %) та гепатоспленомегалії (81,25 %). Серед біохімічних синдромів переважав холестатичний. Менш виразним у порівнянні з дітьми першого року життя був гепатопривний синдром, цитолітичний та мезенхімального запалення (запальний тип цитолізу переважав над некротичним).

Особливостями клінічного перебігу ХВГ у дітей, віком від 4 до 7 років, було переважне інфікування HCV (80 %), з однаковою кількістю ДНК/РНК-позитивних та ДНК/РНК-негативних дітей. Домінувала мінімальна чи відсутня

активність запального процесу, і лише у 20,0 % випадків реєструвалась висока. На відміну від попередніх двох вікових груп шлях інфікування у 50 % хворих даного віку – невідомий. Клінічна картина характеризувалась наявністю астеновегетативного (100 %), диспептичного (70 %) та абдомінального (70 %) синдромів. Збільшення печінки (20 %) та гепатоспленомегалія (30,0 %) реєструвались рідше, проте лабораторні дані, що свідчать за анемію (80 %) та тромбоцитопенію (60 %), вказують на наявність гіперспленізму. Біохімічними знахідками є виразний холевмічний синдром, свідченням якого була достовірна гіпербілірубінемія за рахунок прямої фракції, збільшення активності ЛФ майже у 3 рази ( $p < 0,001$ ), ГГТП – більше, ніж у два рази ( $p < 0,001$ ). Менш виразними були індикатори гепатопритивного синдрому, ЦС та МЗС, як і у дітей попередніх двох вікових груп. Переважав запальний тип цитолізу (70 %).

Характерною особливістю ХВГ у дітей молодшого та старшого шкільного віку було переважання ФР вірусів (72,3 % та 63,6 % відповідно) з мінімальною (66,7 % та 50,0 %) або відсутньою (11,1 % та 27,3 %) активністю запального процесу. Слід підкреслити, що у порівнянні з дітьми попередніх трьох вікових груп, збільшувався відсоток осіб із ФІ при НВВ-інфекції та ЛС при НСВ-інфекції. Це не суперечить даним [97], які вказують на зниження активної вірусної реплікації з віком, та збільшення кількості хворих дітей в інтегративній фазі.

За результатами наших спостережень, переважна кількість дітей молодшого (від 7 до 12 років) та старшого (від 12 до 18 років) шкільного віку була інфікована парентерально (відповідно 55,6 % та 54,7 %). На тлі домінування астеновегетативного, диспептичного та абдомінального синдромів, на відміну від молодших дітей, у кожній третій дитини зареєстровано скарги на геморагічний (44,4 % та 40,9 % відповідно) та холевмічний (16,7 %, 31,8 %) синдроми. У більшості дітей розвивалася гепато-і/або спленомегалія (88,8% та 65,9% відповідно), з клінічними і лабораторними ознаками гіперспленізму (анемія – у 88,9 % та 70,5 %, тромбоцитопенія – у 50,0

% та 59,1 % дітей відповідно), що вказує на значну активність запального процесу та порушення гемодинаміки у печінкових судинах.

Результати біохімічних досліджень у дітей шкільного віку (від 7 до 18 років) засвідчують прогресування у них ознак печінкової недостатності. На відміну від дітей молодших вікових груп, окрім типового для ХВГ синдрому холестазу, наростає ЦС. Так активність АЛТ та АСТ зростала в середньому у 2,4 раза. Слід враховувати, що вихідний рівень АЛТ має прогностичне значення при ХГВ. Встановлено, що тривалий нормальний рівень АЛТ у хворих на ХВГ В із асимптоматичним перебігом пов'язаний із сприятливим прогнозом, тоді як підвищення рівня АЛТ принаймні у 2 рази в подальшому асоціюється з тяжким перебігом і смертністю [439].

Особливістю патогенезу ХВГ у підлітків було посилення гепатопривного синдрому та МЗС, а також переважання у них некротичного типу цитолізу над запальним, на відміну від дітей 2-4 вікових груп, для яких більш характерним був запальний тип.

У дітей молодших вікових груп ми не спостерігали значних порушень біохімічних показників, які відображають функціональний стан печінки, що є типовим для ПХВГ і вірусних інфекцій з «повільним» перебігом, та ранніх етапах захворювання характеризує тривалу компенсацію функціонального стану ураженого органу. Подібні дані щодо асимптоматичного клінічного перебігу HBV- і HCV-інфекції при вертикальному шляху передачі наводять і [308, 317, 324].

Щодо дітей шкільного віку, особливо підлітків, відбувалося зрушення більшості біохімічних параметрів, які вказували на наявність у них виразних ознак печінково-клітинної недостатності з тенденцією до прогресування. Так у 40,9 % дітей, віком від 12 до 18 років, спостерігалися клінічні симптоми геморагічного синдрому, у 31,8 % – холемії. Характерною була інтенсифікація ознак гіперспленізму, про що опосередковано свідчили значна анемія (у 70,5 %), та тромбоцитопенія (у 59,1 % випадків).

На відміну від дітей молодших вікових груп, у дітей, віком від 7 до 18 років, окрім типового для ХВГ синдрому холестазу, наростав ЦС, реєструвалося посилення гепатопривного синдрому та МЗС. У дітей першого року життя і підлітків розвивався некротичний тип цитолізу, тоді як у дітей віком від 1 до 12 років частіше мав місце запальний тип.

У підлітків інтенсивніше проявлялися біохімічні ознаки ХС, що підтверджувалося достовірним збільшенням вмісту загального та прямого білірубіну, холестеролу та  $\beta$ -ліпопротеїнів, а також підвищувалась активність ЛФ у 4 рази ( $p < 0,001$ ), ГГТП – у 3,5 раза ( $p < 0,001$ ). Враховуючи, що підвищення активності ЛФ у сироватці крові внаслідок холестазу, хоча не є прямим маркером загибелі гепатоцитів, проте свідчить про інтенсивність даного процесу [46], на основі проведених власних досліджень можна стверджувати, що цитоліз печінкових клітин найбільш інтенсивно відбувається саме у підлітків, хворих на ХВГ, на що вказує активність ЛФ ( $245,7 \pm 8,9$  U/l), яка з однаковим ступенем достовірності ( $p < 0,001$ ) перевищувала таку у дітей 1-4 груп.

Оскільки, за даними [308], тривалість хвороби і рівень сироваткової ГГТП корелює зі ступенем фіброзу, а сироваткова АЛТ – із виразністю запалення, то зростання активності трансаміназ, ГГТП, а також тривалості хвороби у дітей шкільного віку опосередковано засвідчує посилення фіброзних змін у печінці.

Зі збільшенням віку достовірно зростали ознаки МЗС. Тимолова проба підвищувалась у хворих старшого шкільного віку у 54,5 % випадків ( $p < 0,001$ ), а сулемова знижувалась у 56,8 % ( $p < 0,001$ ).

Для пацієнтів підліткового віку типовим є прогресування гепатопривного синдрому, маніфестацією якого є порушення білоксинтезуючої функції. Так вміст фібриногену зменшувався у 2 рази ( $p < 0,001$ ), протромбіновий індекс знижувався майже на 25 % ( $p < 0,001$ ).

Ми погоджуємось з думкою [55, 61, 98] про те, що підлітковий вік вважається одним із найбільш несприятливих періодів для розвитку патології і особливо для ВГ з парентеральним шляхом передачі. В цей період

завершується морфофункціональне формування всіх органів і систем. Під впливом статевих гормонів відбувається нейроендокринна перебудова та значні зміни в імунному статусі. У даному віці спостерігається нестабільність функціональних показників наднирників, підвищується імуносупресивний ефект глюкокортикоїдів, які, як і статеві гормони, стимулюють апоптоз лімфоцитів і пригнічують клітинний імунітет. Цей ефект підсилюється і внаслідок вікової інволюції тимуса.

Провівши патогенетичний аналіз результатів біохімічних досліджень у дітей різних вікових груп нами встановлено, що зі збільшенням віку і, можливо, тривалості захворювання, виразність клінічних та біохімічних симптомів прогресує і досягає максимуму у підлітковому віці, що підтверджується наростанням проявів печінково-клітинної недостатності та цитолізу гепатоцитів.

Відомо, що природній перебіг ХВГ В у дітей включає різні фази, які відображають динаміку взаємодії між макроорганізмом і вірусом : імунна толерантність, імунний кліренс, неактивна нереплікативна фаза (інтеграції) [334, 438]. Фаза імунної толерантності характеризується високим рівнем віремії та мінімальним ушкодженням печінки та є характерною для дітей, народжених HBeAg-позитивними матерями. Ми підтверджуємо цю думку, оскільки у більшості із обстежених пацієнтів першого року життя та віком від 1 до 4 років при вертикальному інфікуванні теж мала місце фаза імунної толерантності. Оскільки прогноз є більш серйозним у дітей, які перебувають у даній фазі, через розвиток таких ускладнень, як ЦП та ГЦК, що зазвичай виникають у підлітковому і дорослому віці [385], ми особливу увагу звертаємо на необхідність лікування дітей раннього віку. А враховуючи той факт, що не всі ліки можна застосовувати у даних пацієнтів (особливо препарати інтерферону), актуальним є пошук засобів патогенетичної терапії, спрямованих на зменшення некрозу та некроаптозу гепатоцитів, тобто, запальної активності патологічного процесу.

Фаза імунного кліренсу, ознакою якої є підвищення АЛТ, відображає імунно-опосередковану елімінацію інфікованих гепатоцитів. У нашому дослідженні з віком (особливо у пацієнтів 7-18 років) спостерігалось зростання активності трансаміназ, що доводить розвиток даної фази.

Якщо врахувати, що ознаками низько- чи нереплікативної фази HBV-інфекції є стійкий нормальний рівень АЛТ та кількість ДНК-HBV у сироватці нижче  $10^4$  копій/мл [372], то подібне ми спостерігали у 50 % дітей, віком від 4 до 7 років. Позитивним є висновок, що ЦП, ГЦК, реактивація вірусної реплікації та ушкодження печінки після настання сероконверсії відбувається рідко [372], а, отже, і прогноз більш сприятливий.

Вікові особливості патогенезу ХВГ В і С у дітей першого року та шкільного віку, особливо у підлітків, обумовлюють швидкість розвитку ЦП і несприятливий прогноз захворювання. Їх необхідно враховувати та індивідуально підбирати засоби патогенетичної терапії, спрямовані в одних випадках на зменшення рівня патогенно індукованого апоптозу та некрозу гепатоцитів, в інших – знижувати активність запального процесу у печінці.

Нами встановлено, що у практично здорових дітей контрольної групи онкомаркер  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові не визначається. Тоді як у дітей, хворих на ХВГ, його рівень коливався від 0 до 13 пг/л. Доведено, що вміст даного білка певною мірою залежить від фази реплікації вірусу, активності запального процесу, а також від віку хворої дитини. Так достовірно вищий вміст даного протеїну у 7,8 раза реєструвався у дітей із ФР проти аналогічного показника у ФІ/ЛС ( $p < 0,01$ ). Чітка залежність кількості  $\alpha$ -ФПН встановлена від активності запального процесу, що проявлялося її збільшенням у 4-7 разів при зростанні виразності запальної активності ( $p < 0,001$ ).

Порівнюючи вміст  $\alpha$ -ФПН у дітей, хворих на ХВГ залежно від віку встановлено, що найбільші показники зареєстровані у дітей першого року життя ( $6,33 \pm 2,01$  пг/л) та віком від 4 до 7 років ( $7,25 \pm 1,04$  пг/л). Постійне та тривале збільшення кількості даного білка, який є онкомаркером [128] і непрямим показником фіброзу печінки, понад допустимі нормативи у дітей

різного віку, хворих на ХВГ В і С, на нашу думку, є несприятливою прогностичною ознакою і може вказувати на прогресивність перебігу даної патології, небезпеку прогресування фіброзу печінки та ризику формування ГЦК. Достовірно більші значення  $\alpha$ -ФПН у дітей із ФР вірусу та високою активністю запального процесу у печінці дозволили підтвердити дані міркування.

Ми встановили, що при ХВГ В і С у дітей відбувалося посилення синтезу і зменшення деструкції СТ, свідченням чого було достовірне збільшення вмісту продуктів метаболізму СТ, а саме ПЗГОП, як найважливішого показника колагеноутворення. Так доведено, що вміст ПЗГОП та сумарного (ВГОП/ПЗГОП) гідроксипроліну у хворих дітей із активною реплікацією вірусу на 39,3 % достовірно перевищує такий у ФІ/ЛС ( $p < 0,05$ ). Посилення процесів фіброзоутворення у печінці хворих на ХВГ В і С дітей відбувалося паралельно із зростанням біохімічної активності запалення. Зокрема, на тлі відсутньої чи мінімальної активності ( $A_{0+1}$ ) запального процесу у печінці вміст ПЗГОП становив  $24,17 \pm 1,44$  мкмоль/л, тоді як при низькій ( $A_2$ ), помірній та високій активності ( $A_{3+4}$ ) даний показник був достовірно більший на 16,1 % і 58,5 % відповідно. Уміст ПЗГОП у дітей із помірною та високою активністю запального процесу зростав у 2 рази ( $p < 0,001$  проти групи контролю), а сумарного – у 1,5 рази ( $p < 0,001$ ).

При аналізі вікової динаміки вмісту продуктів метаболізму СТ встановлено, що зі збільшенням віку хворих дітей прогресуюче зростає вміст ПЗГОП, який характеризує процеси колагеноутворення. Так у дітей першого року життя даний показник зростав на 23,0 % ( $p < 0,05$ ), у віці від 1 до 4 років – на 32,0 % ( $p < 0,01$ ), від 7 до 12 років – на 75,0 % ( $p < 0,001$ ), та найбільше – у дітей, віком від 12 до 18 років, що склало 98,0 % ( $p < 0,001$ ) та опосередковано доводить формування ЦП із збільшенням тривалості захворювання.

Отже, особливості патогенезу ХВГ В і С у дитячому віці визначають характер процесів фіброзування, про що свідчить дисбаланс між процесами синтезу і деструкції СТ в бік посилення її синтезу. Підтвердженням було

достовірно більші значення ПЗГОП у дітей молодшого та старшого шкільного віку, а також із ФР вірусу та високою активністю запального процесу у печінці. Збільшення вмісту саме ПЗГОП, як найбільш чутливого показника колагеноутворення, у сироватці крові дітей різного віку, хворих на ХВГ В і С, є маркером прогресивності перебігу захворювання, формування фіброзу та ЦП. Отримані нами результати перекликаються з даними [159], але не співпадають з рекомендаціями [17], щодо значимості біохімічних маркерів метаболізму СТ у дітей, хворих на ХВГ, оскільки, на їхню думку, вміст ВГОП більше 13 мкмоль/л необхідно вважати високочутливим показником фібропластичного процесу у печінці.

На основі аналізу протоколів розтину померлих дітей із ВГ встановлено, що найчастіше (84,6 %) помирали діти першого року життя (зокрема 65,4 % – новонароджені), рідше (15,4 %) – підлітки. Отримані результати узгоджуються з даними [517], які встановили, що найвища смертність від ГПН на тлі ВГ спостерігається у новонароджених та дітей першого року життя, із збільшенням віку смертність від даної патології знижується.

Розподіл за патологоанатомічними діагнозом був наступним : вроджений ВГ В – 4 особи (15,4 %), ВГ В+С – 1 (3,8 %), ВГ С – 2 (7,8 %), ВГ неуточної етіології – 2 (7,8 %), хронічна печінково-клітинна недостатність з ЦП – 3 (11,5 %), фетальний ВГ з невиявленим збудником (виключена цитомегаловірусна, герпетична та токсоплазмозна етіологія) – у 14 дітей (53,8 %). За даними [84] реєстрація ЦП при патологоанатомічному дослідженні, при відсутності інших секційних знахідок, має розцінюватись як ознака ВГ.

У більшості померлих дітей першого року життя ВГ був вродженим, тобто реалізувався «вертикальний» шлях передачі вірусів, що призводило до масивного цитолізу гепатоцитів, прогресуючої гепатоцелюлярної недостатності та смерті.

Серед померлих переважали мешканці сільської місцевості (69,2 %), в яких надто пізно діагностувався ВГ, тому хворі надходили до стаціонару з ознаками декомпенсованої печінково-клітинної недостатності, тобто,



печінкової коми, коли лікувальні заходи були неспроможні компенсувати вкрай тяжкий стан хворого та відновити життєво важливі функції печінки.

Клінічна картина ВГ у померлих дітей в першу чергу залежала від віку, зокрема у дітей першого року життя, особливо новонароджених, скарги матерів були загальними та непатогномонічними для даної патології, тому діагностика відбувалася пізно, і адекватне лікування призначалося невчасно. Аналіз перебігу фетальних ВГ, що призвели до летального наслідку, свідчить про розмаїття його клінічних проявів. Досить характерними були : жовтяниця, гепатоспленомегалія, геморагічний синдром.

Для всіх померлих характерною була наявність клінічних ознак виразного холемічного та ахолічного синдромів, а саме розлади з боку ЦНС, виразна жовтяниця, інтенсивність якої зменшувалася із наростанням печінкової недостатності і переходом у кому, геморагічний синдром (69,3 %), гепатоспленомегалія (69,2 %) чи, навпаки, зменшення розмірів печінки (30,8 %), гіпо- (57,7 %) чи ахолічні (42,3 %) випорожнення, потемніння сечі (100 %). Отримані результати перекликаються із літературними даними [84], відповідно до яких обов'язковими клінічними проявами печінкової коми є жовтяниця різної інтенсивності.

Результати біохімічного дослідження крові померлих засвідчили гіпербілірубінемію ( $244,2 \pm 19,7$  мкмоль/л), активність трансаміназ перевищвала норму більше, ніж у 5 разів, зростала тимолова проба, розвивалася гіпоглікемія ( $2,21-1,63$  ммоль/л), яка пов'язана із порушенням глікогенсинтезуючої функції печінки, а також вичерпанням запасів глікогену. Отже, вказані біохімічні показники засвідчили наявність у термінальній стадії розвитку захворювання виразного холестатичного, цитолітичного та мезенхімально-запального синдромів.

Прогресуюча печінкова недостатність та ендогенна інтоксикація призводили до суттєвих патологічних змін у гемограмі. Зокрема спостерігалась виразна анемія, яка посилювалась у процесі прогресування недуги, і може бути

пов'язана як з порушенням еритропоезу, так і з наявністю ознак геморагічного синдрому.

Звертає увагу наявність у померлих дітей прогресуючої тромбоцитопенії ( $88,13-34,93 \cdot 10^9/\text{л}$ ), яка обумовлює порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу. Гепатоцелюлярна недостатність із порушенням білоксинтезуючої функції печінки призводила до розладів коагуляції, свідченням чого було зменшення протромбінового індексу ( $55,64 \pm 3,31$  %), зниження вмісту фібриногену крові ( $0,78 \pm 0,14$  г/л), поява патологічного фібриногену В, а також збільшення часу рекальцифікації плазми ( $136,19 \pm 3,86$  с). Безсумнівно, що вказані прояви геморагічного синдрому мають істотне значення в танатогенезі при печінковій комі. Подібні розлади гомеостазу спостерігали і інші автори [513, Нікітін, 2008]. Деякі автори вважають, що говорити про печінкову недостатність, як причину смерті від ВГ, без явищ геморагічного синдрому не можна [59, 84], а інші – що виразне порушення гемостазу у дітей може спричинятись і значним холестазом [496].

Згідно результатів проведеного нами патологоанатомічного дослідження, безпосередньою причиною смерті при ВГ у дітей у більшості випадків (61,5 %) була наростаюча печінково-клітинна недостатність, у тому числі з розвитком геморагічного синдрому, у 38,5 % – ендогенна інтоксикація, що розвивалася на тлі ВГ. Отримані результати співпадають з літературними даними [84, 517], відповідно до яких, основною причиною смерті при ВГ є прогресуюча печінкова недостатність, яка завершується печінковою комою, що призводить до смерті протягом 2-3 днів.

Оскільки біопсійне дослідження печінки в педіатричній практиці в Україні використовується досить обмежено, а якщо проводиться, то не дає повної морфологічної картини відхилень від норми через нерівномірність патологічних процесів у органі [19, 84, 418], то встановлення патоморфологічних особливостей ВГ у дітей різного віку, померлих від даної патології є необхідним для доповнення патогенезу. Дослідження морфології печінки проводилось у відповідності з діагностичним алгоритмом [84].

У нашому дослідженні ХВГ В гістологічно підтверджувався наявністю загальноприйнятих морфологічних критеріїв, таких як запальна інфільтрація лімфоїдними клітинними елементами, що захоплює портальні тракти чи виходить за їх межі, реакція клітин Купфера, дистрофічні зміни гепатоцитів різного ступеня; «матово-склоподібні» гепатоцити з маргінальною локалізацією хроматину («пісочними ядрами»), вогнища перипортальних та централобулярних некрозів [84, 126, 205, 219, 243].

У померлих від ХВГ С та ХВГ В+С характерним було поєднання гідропічної, дрібно- або крупновакуольної жирової дистрофії та утворення тілець Каунсільмена. У просвіті синусоїдів траплялися скупчення лімфоцитів у вигляді ланцюжків, а в портальних шляхах у деяких випадках – лімфоїдні фолікули, що є підтвердженими морфологічними маркерами ВГ [308, 126, 114].

У померлих дітей, віком до 1 року, які були інфіковані перинатально, на тлі незрілості печінки відслідковувався ряд морфологічних особливостей гепатиту, а саме розвиток значного набряку органу, гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка може спричиняти фульмінантний перебіг з летальним наслідком, що узгоджується з даними літератури [500, 513]. Гігантоклітинна трансформація гепатоцитів виявлялася і при більш пролонгованому та хронічному перебігу ВГ. Особливістю таких варіантів ВГ був розвиток перицелюлярного фіброзу. Спостерігалось часткове, іноді майже повне, заміщення паренхіматозних структурних елементів СТ, що теж є одним із патогенетичних механізмів прогресивності ВГ і спричиняє швидкий розвиток ЦП.

У померлих від ВГ В новонароджених спостерігали дисконкомплексацію печінкових балок і виразний фіброз навколо центральних вен і в ділянці портальних трактів. Характерним для померлих дітей раннього віку є переважання альтеративних змін (дистрофії та поширеного некрозу), можливі крововиливи та виразна запальна інфільтрація імунокомпетентними клітинами, що відповідає активності А3 за системою METAVIR. Незважаючи на нетривалий перебіг захворювання, відслідковувався швидкий розвиток фіброзу,

аж до формування ЦП. Предикторами активного фіброгенезу у дітей раннього віку був колапс строми, активна запальна інфільтрація, крововиливи з гемосидерозом, зміна структури та ущільнення ПКМ та інші.

У померлих дітей раннього віку нерідко траплялися холестатичні варіанти ВГ, у тому числі з фульмінантним перебігом. При фульмінантному перебігу ВГ у дітей першого року життя поряд із гігантоклітинною трансформацією гепатоцитів спостерігався нерівномірний холестаза у жовчних капілярах та міжчасточкових жовчних дуктулах, що виражалось розвитком білірубінового сладжу у внутрішньочасточкових жовчних капілярах та білірубіностазу в цитоплазмі гепатоцитів. Це узгоджується з морфологічними даними [84], які вказують, що досить характерним для перебігу фетального ВГВ є виразний холестаза, що нерідко призводить до подальшого розвитку біліарного цирозу.

Ретроспективне гістологічне дослідження печінки, померлих від ХВГ підлітків (12-16 років), дозволило виявити надзвичайне різноманіття морфофункціональних змін індивідуального плану. На наш погляд, це пов'язано як з етіологічними, так і патогенетичними факторами.

По-перше, вертикальне інфікування клінічно може пізно маніфестувати, коли в печінці розвиваються зміни незворотного характеру – ЦП або ГЦК, тобто у підлітковому віці на тлі вікових змін ендокринної та імунної систем, а саме вікової інволюції тимуса, збільшення продукції статевих гормонів, нестабільності функціональних показників наднирників з імуносупресивним ефектом глюкокортикоїдів, які, як і статеві гормони, стимулюють апоптоз лімфоцитів і пригнічують клітинний імунітет. Цей ефект підсилюється і внаслідок вікової інволюції тимуса. За даними [98, 154], підлітковий вік вважається одним із найбільш несприятливих періодів для розвитку патології і, особливо, для інфікування вірусами гепатиту з парентеральним шляхом передачі.

Морфологічними особливостями ХВГ у підлітків, як і у дітей раннього віку, були розвиток нерівномірного лімфостаза, розширення просвіту

синусоїдів лімфою, що іноді спричиняло атрофію печінкових балок від тиску. Рідко, у вогнищах дистрофії і некрозу, траплялися крововиливи типу геморагічної інфільтрації, іноді з розвитком вогнищового гемосидерозу. Некроз, запальна інфільтрація, лімфостаз, підвищення вмісту заліза – це ті патогенетичні фактори, які підтримують гіпоксію і сприяють швидкому прогресуванню фіброзу у дітей. За системою METAVIR фіброз портальних шляхів при ХВГ у підлітків відповідав F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub>. Отже, фіналом розвитку ХВГ у підлітків є ЦП та ГЦК.

Що стосується некрозу, то він виявлявся постійно. При ВГ С некроз мав більш поширений характер, ніж при ВГ В. Суттєво пожвавлювався патогенно індукований апоптоз, у вигляді тілець Каунсільмена, тобто змінених гепатоцитів з виразною еозинофільною цитоплазмою та гіперхромним без чітких контурів ядром. При біопсійному дослідженні печінки [17] спостерігали ацидофільні тілця Каунсільмена у 56,0 % дітей з ХВГ С та у 33,0 % – із ХВГ В, які, на думку автора, характеризують заключну стадію апоптозного каскаду на тлі невиразних запальних змін у печінці.

Відомо, що ВГ є поліорганною патологією [39, 73, 117, 161, 241]. Ми підтверджуємо дані [116, 205, 346, 518], що клінічна маніфестація позапечінкових проявів, особливо у дітей, може бути домінантною і значно ускладнювати діагностику ХВГ.

Так гістологічно ми виявили, що у підлітків легені нагадували «шокові», тобто спостерігалися дрібні вогнища дис- та ателектазу, значне повнокрів'я з поширеними крововиливами та помірний набряк, траплялися «гіалінові мембрани». У випадках наявності ЦП набряк легенів не завжди визначався. Міжальвеолярні перетинки у всіх померлих були потовщені не тільки за рахунок збільшення кровонаповнення септальних капілярів, а, в першу чергу, за рахунок проліферації ендотеліоцитів та макрофагів, які місцями закривали просвіт септальних капілярів, що властиво для васкуліту, і нагадували інтерстиційне запалення. Зустрічалися сидеробласти з помірним, а то і значним накопиченням гемосидерину. Що стосується дітей першого року життя, то в їх

легенях описані зміни були ще виразнішими, крововиливи спостерігалися не лише в паренхімі, а й у просвіті дрібних бронхів. У окремих випадках на тлі ХВГ В спостерігали розвиток вогнищевої пневмонії зливного характеру. Остання підтверджувалася наявністю в порожнині альвеол серозного або серозно-геморагічного ексудату з лейкоцитами та десквамованими альвеолярними макрофагами, в яких іноді визначався гемосидерин. Вказані зміни свідчили про розвиток васкулітів і хронізацію застійного повнокрів'я. Подібні зміни в легенях при ВГ спостерігали і інші автори [84], які констатують більш часте ураження інших органів, передусім легень. Автори вважають, що початкові зміни при HBV-інфекції виникають в ендотелії капілярів, потім розповсюджуються на макрофаги, поверхня ядра яких збільшується за рахунок збільшення множинних випинань.

У деяких померлих дітей першого року життя суттєві патоморфологічні зміни визначалися у тонкій та товстій кишці, зокрема розвиток нерівномірного повнокрів'я з крововиливами та набряком слизової оболонки. Траплялися випадки глибокого некрозу ворсинок слизової оболонки тонкої кишки, що є характерним для флегмонозно-гангренозного ентериту. Ми вважаємо, що вони можуть бути спричинені печінковою недостатністю та розвитком ДВЗ-синдрому. Але важко виключити і роль дисбактеріозу, який може розвиватися при ХВГ [88, 124].

Відомо, що вікові особливості прогресування та наслідків HBV- та HCV-інфекції, в першу чергу, обумовлені ступенем зрілості і швидкістю інволюції імунної системи господаря [489, 523]. Ця теза повністю співпадає з результатами наших досліджень. Так при ВГВ і С та ЦП у померлих дітей, віком до одного року, майже повністю виявлялася акцидентальна інволюція тимуса третього-п'ятого ступеню, при якій кількість лімфоцитів у кірковій та мозковій зонах зменшувалась майже до повного зникнення. Слід відмітити, що глибока акцидентальна інволюція тимуса часто поєднувалася з гігантоклітинною трансформацією гепатоцитів, масивними неодноточасними некрозами та апоптозом, розвитком внутрішньоорганного холестазу.

Імунодефіцит, спричинений акцидентальною інволюцією тимусу безумовно створює умови для прогресивності перебігу ХВГ та швидкого розвитку ЦП на тлі колапсу строми.

За результатами гістологічного дослідження печінки дітей, померлих від ВГ з фульмінантним перебігом, можна констатувати, що у переважній кількості випадків спостерігається гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка може бути різною за етіологією, патогенезом, морфогенезом, і вирішальну роль в її розвитку мають вікові особливості як самої печінки, так і імунної, нейроендокринної систем у цьому віці. Вважають, що механізм формування гігантських клітин при ВГ пов'язаний з імунним дефектом [84].

Різні патоморфологічні зміни були виявлені у наднирниках. У частини дітей, особливо підліткового віку, спостерігали набрякання клітин клубочкової і, особливо, пучкової зони кіркового шару. Набухання клітин пучкової зони за рахунок збільшення в них ліпідів ми розцінюємо як компенсаторне підвищення синтезу глюкокортикоїдів. В одного померлого підлітка гістологічно у наднирнику виявлені регенераційні аденоми, які, на нашу думку, є проявом процесу компенсації на довготривалий запальний процес у печінці. У дітей, переважно раннього віку, навпаки, кірковий шар був стоншеним, у першу чергу за рахунок звуження пучкової зони. Клітини останньої втрачали характерну орієнтацію, нечітко відмежовувались від клубочкової зони, мали різні ядра, а цитоплазма була мутною, іноді гомогенною. Капсула органу зморщена, нерівномірно склерозована. Подібні змін, безумовно, передбачають зниження функції цього органу, що перекликається з даними [282, 283].

В головному мозку виявляли ознаки значного набряку, повнокрів'я, дистрофічних змін нейроцитів.

Таким чином, проведене гістологічне дослідження показало, що ВГ у дітей є поліорганною патологією. Глибокі патоморфологічні зміни виникають у легенях, нирках. У тонкій і товстій кишці, окрім катарального запалення, можливий розвиток флегмонозно-гангренозного процесу, у тимусі – акцидентальної інволюції різного ступеню тяжкості. Позапечінкові патологічні

процеси у внутрішніх органах створюють несприятливі умови для перебігу основного захворювання, ускладнюють діагностику і можуть спричинити летальні наслідки. Можна передбачити, що вказані позапечінкові зміни могли маскувати клінічну маніфестацію ХВГ, особливо при малосимптомному перебігу, що утруднює їх вчасну діагностику, сприяє розвитку термінальних форм із летальним наслідком.

Протягом останніх років розкрита вагома роль цитокінів у здійсненні противірусного імунітету та регуляції запалення. Порушення функціонування системи регуляторних цитокінів при ВГ може бути одним із механізмів розвитку несприятливих наслідків ГВГВ, а саме виникнення ГПН, формування ПХВГ і хронічних форм і/або переходу в ЦП і ГЦК [23, 36, 243].

Враховуючи важливу роль порушень імунорегуляторних механізмів та дисбалансу в системі прозапальних та протизапальних цитокінів у формуванні та прогресуванні ХГ, нами було досліджено концентрацію ряду прозапальних та профібrogenного цитокінів у сироватці крові при ХВГ у дітей.

Важливу патогенетичну роль прозапальних цитокінів у пошкодженні печінки при ХВГ у дітей у ФР підтверджує виявлене нами значне зростання їх концентрації у порівнянні з аналогічною при ФІ/ЛС (TNF- $\alpha$ ,  $p < 0,001$ ; IL-1,  $p < 0,01$ ; IL-8,  $p < 0,001$ ). Збільшення концентрації IL-8 у ФР обернено корелювало зі зменшенням вмісту протизапального IL-4 ( $r = -0,29$ ,  $p = 0,07$ ), що свідчить про посилення запального процесу у відповідь на активну реплікацію вірусу. Збільшення вмісту протизапального цитокіну IL-10 ( $p < 0,05$ ) у ФІ/ЛС вказує на його важливу роль у пригніченні процесу запалення на тлі припинення реплікації вірусів. Зменшення продукції ІФН- $\alpha$  та збільшення – ІФН- $\gamma$  відбувалося незалежно від фази реплікації вірусу. Отримані дані частково узгоджуються з даними [96].

Підвищений уміст IL-2 у дітей з інтегративною (латентною) фазою ХВГ ( $p < 0,001$ ) свідчить про активацію Th1 лімфоцитів та їх участь у прогресивності патологічного процесу в печінці навіть при безсимптомному перебігу та відсутньої активної реплікації вірусу.



Аналіз вмісту профіброгенного цитокіну TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові в залежності від фази захворювання показав достовірне та значне його збільшення у дітей з активною реплікацією вірусу ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з аналогічним показником у ФІ при HBV-інфекції та ЛС – при HCV-інфекції. Рівень IGF-1 у сироватці крові дітей, хворих на ХВГ, зростав незалежно від реплікативної активності вірусу. З активацією профіброгенного TGF- $\beta$ 1 у ФР вірусу пов'язують прогресування фібропластичного процесу у печінці, що перекликається з даними [17].

Встановлено, що існує обернений кореляційний зв'язок ( $r = -0,33$ ,  $p < 0,05$ ) між концентрацією регуляторного цитокіну ІЛ-6, який володіє як прозапальними, так і протизапальними властивостями, та біохімічним маркером МЗС - тимоловою пробою. Збільшення вмісту ІЛ-6 пригнічує мезенхімально-запальну відповідь і відіграє важливу роль у механізмах розвитку ХВГ.

Зростання активності запального процесу у печінці проявлялось збільшенням концентрації основних прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8), а також супресію протизапального цитокіну ІЛ-4, що узгоджується з даними літератури [17].

Повноцінність імунної відповіді організму на вірусну інфекцію значною мірою залежить від достатньої продукції інтерферону [134, 143, 413]. Встановлене нами зменшення продукції такого важливого фактору протівірусного імунітету як ІФН- $\gamma$ , на тлі підвищення активності запалення.

Відомо, що зростання рівня TGF- $\beta$ 1 та IGF-1 відіграє важливу роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки [69, 208, 409].

Нами встановлено, що у дітей з низькою активністю запалення концентрація TGF- $\beta$ 1 у сироватці була найвищою, тоді як у дітей із високою та помірно активним ХВГ мало місце недостовірне зниження його концентрації, що підтверджувало пригнічення протизапальних цитокінів у хворих з активним гепатитом.

Зменшення активності запального процесу у печінці при ХВГ, на нашу думку, спричинене безпосереднім впливом IGF-1, що підтверджувалося існуванням прямого кореляційного зв'язку між ним і біохімічним маркером мезенхімального запалення – тимоловою пробою ( $r=0,32$ ,  $p<0,05$ ).

Оскільки в науковій літературі відомостей про вікові особливості цитокінового профілю та імунопатогенезу ХВГ у дітей ми не знайшли, то одним із завдань дисертації стало дослідити та провести патогенетичний аналіз вікової динаміки концентрації у сироватці крові основних про- і протизапальних та профібrogenних цитокінів при даній патології.

В результаті встановлено, що найбільш виразні порушення цитокінового профілю розвиваються у дітей першого року життя. У них виявляється гіперпродукція прозапальних цитокінів, які синтезуються Th 1 типу. Кількість основного прозапального цитокіну (TNF- $\alpha$ ) збільшувалася в 11 разів ( $p<0,001$ ), IL-2 – у 6 разів ( $p<0,05$ ), IL-6 – у 4 рази ( $p<0,001$ ), IL-8 – у 15 разів ( $p<0,001$ ) у порівнянні з дітьми контрольної групи. Активність протизапальних цитокінів була неоднозначна, оскільки кількість IL-4 знижувалася у 2,5 раза ( $p<0,05$ ), тоді як IL-10 – підвищувалася більше, ніж у 4 рази ( $p<0,01$ ). Збільшення вмісту IL-10 прямо корелювало зі збільшенням IL-8 ( $r=0,31$ ,  $p<0,05$ ).

Стосовно змін у інтерферогенезі, слід відмітити, що у дітей першого року життя синтез ІФН- $\alpha$  зменшувався в 6 разів ( $p<0,01$ ), тоді як ІФН- $\gamma$ , навпаки, зростав майже в 4 рази ( $p<0,01$ ), що могло створювати умови для опосередкованого ушкодження гепатоцитів через активацію Купферівських клітин [373]. Зменшення синтезу ІФН- $\alpha$ , який відіграє ключову роль у елімінації вірусів, хоча і прямо корелював з рівнем протизапального IL-4 ( $r=0,45$ ), все ж визначає недостатній захист гепатоцитів та, на нашу думку, відіграє не останню роль у формуванні ПХВГ, що узгоджується з даними [36, 234, 413].

У дітей, віком від 1 до 4 років, порушення цитокінового балансу є схожими, проте менш глибокими. Так вміст TNF- $\alpha$  у сироватці хворих на ХВГ дітей даного віку збільшувався у 6,7 раза ( $p<0,01$ ), IL-2 – у 2 рази ( $p<0,01$ ), IL-8

– у 5,5 раза ( $p < 0,05$ ). Виявлено суттєве зменшення продукції ІФН- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ), а також тенденція до зменшення кількості ІФН- $\gamma$ , що може бути причиною порушення противірусного захисту макроорганізму у відповідь на проникнення вірусу.

У хворих, віком від 4 до 7 років, реєструвався надмірний синтез цитокінів, які продукуються Th1 і є регуляторами клітинної імунної відповіді, а саме вміст TNF- $\alpha$  збільшувався в 16 разів ( $p < 0,05$ ), ІЛ-2 – майже у 8 разів ( $p < 0,01$ ), ІФН- $\gamma$  – майже у 3 рази ( $p < 0,05$ ). На відміну від пацієнтів перших двох груп, відбувалося достовірне збільшення кількості мультифункціонального прозапального цитокіну ІЛ-1 (у 2 рази,  $p < 0,01$ ). У даного контингенту дітей зареєстрована тенденція до збільшення у сироватці крові вмісту протизапального цитокіну ІЛ-4 ( $p = 0,09$ ), що вказує на включення компенсаторних регуляторних механізмів пригнічення виразності запального процесу. Вміст ІФН- $\alpha$  мав тенденцію до зменшення ( $p = 0,09$ ) у порівнянні з контролем.

Таким чином, виявлена у дітей, віком від 8 місяців до 7 років, виразна гіперпродукція TNF- $\alpha$  характеризує підвищення некрозапальної активності [391, 544] внаслідок TNF-опосередкованого апоптозу [445], а також інтенсифікацію процесів фіброзування печінки [243], оскільки, як відомо, TNF- $\alpha$  активує трансформацію ЗК у міофібробласти та потенціює ефекти потужного стимулятора синтезу колагену – TGF- $\beta$ 1 [501].

У хворих на ХВГ, віком від 7 до 12 років, зареєстровано менш виразне у порівнянні з попередніми групами збільшення вмісту прозапальних цитокінів, які продукуються Th 1 типу, зокрема вміст TNF- $\alpha$  зростав лише у 3 рази ( $p < 0,01$ ), ІЛ-2 – у 8 разів ( $p < 0,05$ ), рівень ІЛ-1 лише мав тенденцію до збільшення ( $p = 0,081$ ), що вказує на пригнічення активності Th1 та клітинної ланки імунітету, яка має найважливіше значення у елімінації вірусів.

У хворих на ХВГ підлітків, віком від 12 до 18 років, дисбаланс основних регуляторних прозапальних цитокінів сироватки крові був найменш виразним. Так рівень TNF- $\alpha$  мав лише тенденцію до зростання ( $p = 0,09$ ), тоді як наставало

суттєве збільшення вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10 (у 3 рази,  $p < 0,01$ ), що вказує на активацію Th 2 типу та пояснює механізми зменшення виразності клінічної маніфестації ХВГ у дітей даного віку. Висока концентрація ІЛ-10 корелює з підвищеним ризиком розвитку гепатоцелюлярної карциноми [143] і це підтверджується результатами наших гістологічних досліджень, а саме – виявленням даної злоякісної пухлини в однієї із 26 померлих дітей.

Зменшення вмісту сироваткового ІЛ-2 у дітей із збільшенням віку поєднувалося з підвищенням активності запального процесу в печінці, тоді як високі концентрації ІЛ-2 у дітей першого року життя, та віком від 4 до 7 років, поєднуються з мінімальною та низькою активністю запалення, що перекликається з даними [75].

У дітей, віком від 8 місяців до 4 років, та у підлітків не спостерігалось зростання рівня ІЛ-1 $\beta$ , що, можливо, свідчить про відсутність повноцінної клітинної відповіді і є однією із ланок патогенезу хронізації ВГ, що перекликається з думкою [23].

Отже, у підлітків вказані зміни у цитокіновому профілі свідчать про пригнічення активності Th1, які є стимуляторами клітинної імунної відповіді, і про активацію Th2, які активують гуморальну відповідь, що певною мірою розкриває механізми хронізації ВГ у даній віковій групі. Високі показники протизапальних цитокінів відповідають активній реплікації вірусу та недостатній за силою імунній відповіді, що сприяє збереженню циркуляції вірусів та їх вислизанню з-під імунного нагляду [87].

При аналізі динаміки профіброгенного цитокіну TGF- $\beta$ 1 нами встановлено її зростання у всіх вікових групах. У дітей першого року життя, які були інфіковані перинатально, вона виявилась найвищою ( $454,7 \pm 12,95$  пг/мл) і достовірно перевищувала таку у дітей інших вікових груп. Виразне посилення продукції TGF- $\beta$ 1, який, як відомо, пригнічує ІЛ-1 залежну проліферацію тимоцитів, проліферацію та цитотоксичність NK та лімфоцитів, інгібує експресію молекул головного комплексу гістосумісності HLA II класу на різних типах клітин, є антагоністом основних прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-2,

ФНП- $\alpha$  та ІНФ- $\gamma$ ), а також посилює апоптоз через p53 [69, 143, 279, 501, 534]. Таким чином, у даній віковій групі дітей, хворих на ХВГ, клітинна T $\alpha$ 1-залежна імунна відповідь, така необхідна для захисту від вірусів, гальмувалася, що сприяло виживанню гепатотропних вірусів і надавало процесу первиннохронічного перебігу.

При аналізі концентрації IGF-1 встановлено, що у дітей першого року життя вона виявилась найнижчою серед усіх обстежених вікових груп ( $90,65 \pm 22,86$  пг/мл), і мала достовірну відмінність від аналогічного показника у дітей молодшого ( $p < 0,01$ ) та старшого шкільного віку ( $p < 0,001$ ). На нашу думку, тенденція до зменшення синтезу IGF-1 у дітей першого року життя теж відіграє важливу роль у механізмах хронізації ВГ у перинатально інфікованих хворих, оскільки, за даними [415], IGF-1, який в нормі продукується гепатоцитами, пригнічує запальну відповідь, шляхом зменшення макрофагальної інфільтрації та вмісту ФНП- $\alpha$ , пригнічує оксидативний стрес, гальмує апоптоз паренхіматозних клітин [327] за рахунок зменшення проникності «мітохондріальної пори» [539]. Дефіцит IGF-1 у даного контингенту дітей спричиняє надмірну безконтрольну активацію ЗК, трансформацію їх у міофібробласти, гіперпродукцію TGF- $\beta$ 1, пригнічує регенерацію печінкових клітин та стимулює формування ЦП [342, 348].

Встановлено, що у підлітків вміст IGF-1 у сироватці крові був найвищим і складав  $262,2 \pm 12,02$  пг/мл, що має достовірну різницю із таким у хворих решти груп. Враховуючи те, що протизапальний цитокін IGF-1 у процесі фіброгенезу синтезується клітинами Купфера та Іто [69, 415], з одного боку, посилює апоптоз ЗК і водночас стимулює проліферацію міофібробластів, які відіграють основну роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки шляхом синтезу компонентів ПКМ [69, 407], то зростання рівня даного фактору зі збільшенням віку дітей, за отриманими нами даними, розкриває деякі механізми швидкого формування ЦП, а також розвиток дисплазії гепатоцитів та ГЦК у підлітків та юнаків, за даними [268].

Отже, проведенне дослідження цитокинового профілю при ХВГ В і С показало, що порушення цитокинової регуляції у дітей різного віку мають певні вікові особливості патогенезу ХВГ.

Ми вважаємо, що цитокинова регуляція в першу чергу визначається віковою індивідуальною специфічною реактивністю хворого організму, зокрема, станом клітинної та гуморальної ланки імунної системи. Тому стверджувати про чіткі закономірності змін цитокинової регуляції при ХВГ В чи ХВГ С є некоректним, оскільки вони пов'язані з індивідуальними особливостями пацієнтів кожної вікової групи і залежать від вікової реактивності.

Проведений патогенетичний аналіз показників клітинного та гуморального імунітету дозволив дійти до висновку про існування суттєвих вікових відмінностей механізмів розвитку ХВГ у дітей.

Одним із найбільш вагомим і постійним імунним порушень при ХВГ В і С у дітей є дефіцит CD4+, що може бути пов'язано з їх апоптозом, перерозподілом пулу Th, а також з його виснаженням, що призводить до порушення елімінації вірусу та підтверджується даними літератури [25, 68, 126, 234, 491, 488].

Нами доведена залежність імунологічних порушень при ХВГ у дітей від фази реплікації вірусу. Так у ФР реєструвалася абсолютна лімфопенія, яка полягала у зменшенні кількості CD3+, CD4+ та CD16+ - лімфоцитів. Проте відбувалося збільшення числа CD8+, що опосередковано вказує на активацію цитотоксичних реакцій у дану фазу патологічного процесу. Зареєстровано зростання кількості CD25+, що підтверджувалося збільшеним вмістом сироваткового ІЛ-2. При зростанні реплікаційної активності вірусу достовірно збільшувався ІРІ ( $p < 0,05$  проти ФІ/ЛС), це доводить, що *is situ* популяція Т-хелперів/індукторів (CD4+) може позитивно регулювати активність цитотоксичних Т-лімфоцитів у пацієнтів з ХВГ.

Пригнічення цитотоксичних реакцій у ФІ/ЛС проявлялося меншою кількістю НК (CD16+), що доповнює механізми хронізації ВГ у дітей і

узгоджується з даними літератури щодо стійкого дефіциту Т-лімфоцитів та зниження ІРІ при ХВГ дітей [234] та дорослих [271, 335, 448].

Встановлено, що зі збільшенням активності запалення відмічалось достовірне зростання кількості CD8<sup>+</sup> та CD16<sup>+</sup>, які, з одного боку сприяють елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняють прогресуюче ураження гепатоцитів, оскільки посилюють синдром цитолізу.

Високу частоту хронізації HBV-інфекції при перинатальному інфікуванні дітей першого року життя пов'язують з незрілістю усіх ланок імунітету з виразним імунним відхиленням (Th1<Th2), яка найбільш виразна у дітей даного віку [489].

Нами встановлено, що імунний статус дітей, хворих на ХВГ, залежить від віку. Зокрема, дітям першого року життя притаманна найбільша абсолютна кількість лімфоцитів, у тому числі, достовірно найвищі показники абсолютної кількості CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup> та CD25<sup>+</sup>. Проте, аналізуючи відносні величини даних клітин встановлено, що на тлі зменшення вмісту CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, мало місце збільшення CD8<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup> та CD25<sup>+</sup>. У дітей даної вікової групи кількість CD16<sup>+</sup> була найбільшою і достовірно перевищувала аналогічний показник у дітей другої, третьої та п'ятої вікових груп, і, навпаки, кількість CD25<sup>+</sup> виявилась найменшою, порівняно з хворими другої, четвертої та п'ятої груп, що, на нашу думку, свідчить про найбільш інтенсивне пригнічення Th 1 типу і підтверджується зменшенням концентрації цитокінів, які вони виробляють. Переважання Th 2 типу і значне достовірне збільшення кількості CD22<sup>+</sup> підкреслює гетерогенність імунного статусу у дітей раннього віку, яка, можливо, зумовлена різним функціональним станом тимусної активності.

У дітей, віком від 1 до 4 років, хворих на ХВГ, на тлі достовірно меншої загальної кількості лімфоцитів реєструвалось суттєве достовірне зменшення абсолютної кількості CD3<sup>+</sup> (p<0,01), CD4<sup>+</sup> (p<0,05), тенденція до зменшення абсолютного вмісту CD8<sup>+</sup> поєднувалася з достовірним збільшенням їх відсотка. Зареєстровано достовірно більший відсоток CD22<sup>+</sup> (на 36,1 %, p<0,001) та

рівень IgG у сироватці крові (у 1,6 раза,  $p < 0,01$ ). Тобто, дітям із ХВГ, віком від 1 до 4 років, притаманні стійкі порушення імунної системи, що характеризуються низьким вмістом CD3+, CD4+, CD8+ на тлі високого - CD22+, що може обумовлювати високу частоту розвитку неактивних форм ХВГ у даному віці та узгоджується з даними [148].

Ми встановили, що дітям, віком від 4 до 7 років, притаманні найнижчі показники усіх досліджуваних імунних параметрів: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ та CD22+ у порівнянні з дітьми іншого віку. Зокрема абсолютна та відносна кількість CD3+ становила 79,0 % ( $p < 0,05$ ) та 82,6 % ( $p < 0,01$ ) від контролю, CD4+ – 68,3 % та ( $p < 0,05$ ) та 71,0 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. На нашу думку, дефіцит CD3+ та CD4+, з одного боку, пов'язаний із незрілістю імунної системи, а з іншого – із її виснаженням внаслідок тривалої антигенної стимуляції HBV та HCV. Вказані механізми можуть слугувати основою формування замкнутого кола для дефіциту Th відповіді і передумовою прогресування захворювання.

Лише кількість CD25+ практично не відрізнялася від аналогічного показника у дітей першого року життя та віком від 1 до 4 років, і було достовірно меншою, ніж у дітей, віком від 7 до 12 та від 12 до 18 років. Лише у хворих на ХВГ, віком від 4 до 7 років зареєстровано найменшу кількість НК у периферичній крові. У них значно підвищувався рівень IgM та IgG у сироватці крові (на 34,9 %,  $p < 0,05$  та на 43,8 %,  $p < 0,05$ ), тобто, мали місце суттєві імунологічні особливості, які відрізнялися від пацієнтів іншого віку. Ми припускаємо, що зменшення CD4+ у даному віці гальмувало темпи фіброзування печінки, а зменшення абсолютної кількості CD8+ поєднувалося з низькою активністю ХВГ В та С. Відмічені особливості узгоджуються з даними [25, 334], але протирічать [148], які спостерігали відновлення імунологічних реакцій у дітей даного віку.

В обстежених нами хворих на ХВГ дітей молодшого шкільного віку (від 7 до 12 років) на тлі більшої абсолютної та відносної загальної кількості лімфоцитів ( $p > 0,05$ ) виявлено достовірно менший відсоток CD3+ та CD4+ (на



14,9 %,  $p < 0,01$  та на 22,9 %,  $p < 0,001$  відповідно) у порівнянні з контролем. На цьому тлі констатовано незначне збільшення абсолютного показника CD8+ та тенденцію до зменшення – відносного, що може свідчити про прогресивний перебіг ХВГ та високий ступінь активності, за даними [148]. Наставало достовірне і значне збільшення абсолютної і відносної кількості CD16+ (у 2 рази,  $p < 0,05$  та у 1,6 рази,  $p < 0,01$  відповідно), що є адекватною відповіддю імунної системи на проникнення вірусів. Спостерігалася також тенденція до збільшення кількості CD22+ та достовірно більша кількість CD25+ у пацієнтів, віком від 7 до 12 років, у порівнянні з дітьми, віком від 4 до 7 років.

У підлітків (віком від 12 до 18 років) зареєстровано більший відсоток CD8+ порівняно з дітьми, віком від 4 до 12 років (на 17,9 %,  $p < 0,05$ ). Збільшення кількості цитотоксичних CD8+ відображає морфологічну активність при ХВГ та пояснює швидке прогресування захворювання та прискорення формування фіброзу печінки у підлітків.

Виявлене у хворих на ХВГ дітей зменшення кількості CD4+ із одночасним зростанням CD8+ відобразилось на зниженні ІРІ та узгоджується з даними [157, 386, 529].

За результатами аналізу імунологічних показників крові 50 обстежених нами хворих на ХВГ дітей різного віку лише у однієї дитини (2,0 %), віком 12 років, спостерігався гіпосупресорний варіант перебігу захворювання із високим ступенем активності, який проявлявся зменшенням відсотка CD8+ і підтверджувався результатами біохімічних досліджень. Типовим, на наш погляд, є варіант перебігу ХВГ, який у 98 % обстежених хворих характеризувався дефіцитом CD3+, деяким зменшенням кількості CD4+, на тлі збільшеної чи нормальної кількості CD8+ та зниження ІРІ, що вказує на розвиток фіброзу [271], а також характеризується високою активністю гуморальної ланки імунітету [234].

На тлі зменшення загальної кількості лімфоцитів та популяцій CD3+ і CD4+ у хворих на ХВГ усіх вікових груп зареєстровано достовірне зростання абсолютних та відносних показників кількості Т-лімфоцитів, що експресують

рецептори для ІЛ-2 (CD25+), що прямо корелювало із гіперпродукцією прозапального цитокіну Th1 - ІЛ-2 ( $r=0,32$ ,  $p<0,01$ ), а також із активацією CD8+ [114].

Таким чином, дітям першого року життя, хворим на ХВГ, на тлі найбільшої абсолютної кількості лімфоцитів притаманні найвищі показники абсолютного вмісту CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ та CD25+. Проте, якщо аналізувати відсоткове співвідношення даних клітин, то виявляється, що на тлі зменшення вмісту CD3+, CD4+ у порівнянні з практично здоровими дітьми даного віку має місце чітке зростання CD8+, CD22+ та CD25+, що може зумовлювати швидші темпи прогресування фіброзу і швидкий розвиток печінкової недостатності саме у цій віковій групі. Подібна динаміка прослідковувалась і у дітей, віком від 1 до 4 років та підлітків. Аналогічне спостерігали і інші автори [25, 489]. Ми погоджуємось з їх думкою, що гетерогенність імунного статусу у дітей раннього віку може бути пов'язана з різним функціональним станом тимусної активності.

У дітей першого року життя рівень CD25+ виявився найнижчим, що може свідчити про інтенсивне пригнічення Th1 за рахунок найбільш виразної гіперпродукції протизапального профіброгенного TGF- $\beta$ 1, а також збільшення продукції ІНФ- $\gamma$ , що спричинило зменшення кількості CD25+ ( $r=-0,70$ ,  $p<0,05$ ), а, отже, зменшувало експресію рецепторів до ІЛ-2 на поверхні Т-лімфоцитів. Незрілість усіх ланок імунітету у дітей, хворих на ХВГ, є основою для виразних імунних відхилень (Th1<Th2).

Ми встановили, що кілерні, чи цитотоксичні реакції посідають центральне місце в патогенезі ХГВ. Так кількість CD16+ достовірно більша у дітей третьої-п'ятої вікових груп, що може бути пов'язана із якісною чи, рідше, кількісною недостатністю CD8+, що обумовлює порушення кооперації імунокомпетентних клітин [1]. Підвищувалась кількість NK-клітин, проте активність їх у дітей, хворих на ХВГ як у стадію загострення, так і в стадію ремісії, була низькою, що, на нашу думку, може бути пов'язано із збільшенням TGF- $\beta$ 1, який, як відомо [279], пригнічує проліферацію та

цитотоксичність NK і не забезпечує елімінацію вірусів із організму та узгоджується з даними [234]. Із літературних джерел [271, 276, 460, 514] також відомо, що NK пригнічують фіброз печінки завдяки руйнуванню активованих ЗК і пригніченню їх прозапального ефекту [339]. Тривала хвороба у більшості обстежених нами хворих може свідчити про відсутність реалізації захисного протифібротичного механізму, обумовленого дією NK.

На основі проведених досліджень можна стверджувати, що у хворих на ХВГ усіх вікових груп достовірно збільшується кількість CD22+ та сироваткових імуноглобулінів. Це вказує на активацію вказаних клітин і гуморальної ланки імунітету. Проліферація продуцентів  $\gamma$ -глобулінів CD22+ свідчить про недостатність за силою і специфічністю відповіді цитотоксичних Т-лімфоцитів на антигени вірусів, а також про дисбаланс в системі Т-хелперів з домінуванням Th2 і переважним стимулюванням гуморальної ланки імунної відповіді, що переключається з даними літератури [25, 234, 272, 298, 315].

Найбільша абсолютна і відносна кількість В-лімфоцитів, а також Ig M і G реєструється у дітей першого року життя, хворих на ХВГ, і співпадає з найбільшими показниками прозапальних цитокінів, біохімічною активністю, що можна вважати патогенетичними особливостями перебігу ХВГ у дітей першого року. Тоді як відомо, що у хворих на ХВГ з високим умістом даних імуноглобулінів реєструються більш високі значення гістологічної активності процесу [25, 234]. Враховуючи ці дані можна передбачити, що саме у дітей першого року життя активність запального процесу є найвищою.

Проведений кореляційний зв'язок між показниками цитокінового профілю та імунного статусу у хворих на ХВГ дітей показав, що збільшена кількість TNF- $\alpha$  активувала продукцію CD16+ ( $r=0,40$ ,  $p<0,05$ ). Крім цього встановлено, що збільшення відсотка CD25+ зворотно регулювало вміст TNF- $\alpha$  ( $r=-0,36$ ) та IL-1 у сироватці крові ( $r=-0,31$ ), зменшуючи його у ФІ.

Збільшення рівня IL-6 посилювало лімфопоез, про що свідчило збільшення абсолютної ( $r=0,31$ ) та відносної ( $r=0,36$ ) загальної кількості лімфоцитів, у тому числі абсолютної і відносної кількості CD3+ (відповідно

$r=0,41$ ,  $p<0,05$  та  $r=0,37$ ,  $p=0,059$ ),  $CD4+$  ( $r=0,44$ ,  $p<0,05$  та  $r=0,33$ ),  $CD8+$  (відповідно  $r=0,40$ ,  $p<0,05$  та  $r=0,44$ ,  $p<0,05$ ). Встановлена участь ІЛ-6 в активації природних кілерів та, як абсолютної ( $r=0,45$ ,  $p<0,05$ ), так і відносної їх кількості ( $r=0,47$ ,  $p<0,05$ ). Поряд із цим ІЛ-6 посилював проліферацію і дозрівання як абсолютної кількості В-лімфоцитів ( $CD22+$ ) ( $r=0,40$ ,  $p<0,05$ ), так і їх відсотка ( $r=0,52$ ,  $p<0,01$ ). Аналогічні ефекти зареєстровано відносно ІЛ-8, який, подібно до ІЛ-6, проте інтенсивніше, збільшував продукцію лімфоцитів як в абсолютних ( $r=0,55$ ,  $p<0,01$ ), так і у відносних величинах ( $r=0,51$ ,  $p<0,01$ ), та дозрівання  $CD3+$  ( $r=0,56$ ,  $p<0,01$ ),  $CD4+$  ( $r=0,54$ ,  $p<0,01$ ),  $CD22+$  ( $r=0,59$ ,  $p<0,001$ ), а також  $CD8+$  ( $r=0,57$ ,  $p<0,01$ ) та  $CD16+$  ( $r=0,58$ ,  $p<0,01$ ), що посилювало імунну відповідь та цитотоксичні реакції. На відміну від ІЛ-6, ІЛ-8 викликав збільшення експресії рецепторів до ІЛ-2 на поверхні Т-хелперів -  $CD25+$  ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ).

Завдяки кореляційному аналізу встановлено, що протизапальний цитокін ІЛ-4 зменшував проліферацію і дозрівання Т-лімфоцитів, зокрема  $CD3+$  ( $r=-0,33$ ,  $p=0,097$ ),  $CD4+$  ( $r=-0,35$ ,  $p=0,08$ ),  $CD8+$  ( $r=-0,34$ ,  $p=0,088$ ),  $CD25+$  ( $r=-0,39$ ,  $p=0,06$ ). Тоді як ІЛ-10 збільшував відсоток лімфоцитів у периферичній крові ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ), а також відсоток  $CD16+$  ( $r=0,33$ ,  $p=0,09$ ), та зменшував відсоток  $CD25+$  ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ). Гіперпродукція протизапального профіброгенного цитокіну TGF- $\beta$ 1 спричиняла зменшення проліферації та диференціювання  $CD3+$  ( $r=-0,45$ ,  $p<0,05$ ),  $CD4+$  ( $r=-0,46$ ,  $p<0,05$ ) та  $CD8+$  ( $r=-0,49$ ,  $p<0,01$ ), що забезпечувало стихання виразності запального процесу. Аналогічна тенденція спостерігалася і при збільшенні синтезу IGF-1, що, на нашу думку, спричиняє зменшення загальної кількості лейкоцитів ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ), абсолютної ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ) та відносної ( $r=-0,36$ ,  $p=0,06$ ) кількості лімфоцитів. Висока концентрація IGF-1 спричиняла зменшення абсолютної кількості  $CD3+$  ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ),  $CD4+$  ( $r=-0,42$ ,  $p<0,05$ ),  $CD8+$  ( $r=-0,40$ ,  $p<0,05$ ), абсолютної кількості  $CD25+$  ( $r=-0,30$ ). Паралельно відбувалось збільшення відсотка  $CD25+$  ( $r=0,37$ ,  $p=0,07$ ) та кількості IgM ( $r=0,30$ ,  $p<0,05$ ). Збільшення продукції IGF-1 також спричиняє достовірне

зменшення CD16+ як абсолютної ( $r=-0,52$ ,  $p<0,01$ ), так і відносної кількості ( $r=-0,50$ ,  $p<0,01$ ), а також абсолютної кількості CD22+ ( $r=-0,47$ ,  $p<0,05$ ), що вказує, на пригнічення виразності запалення при ХВГ у дітей, спричиненим дією даного фактору росту.

Зменшення синтезу ІФН- $\alpha$  при ХВГ В і С, особливо у ФР вірусу, спричиняло збільшення абсолютної ( $r=-0,89$ ,  $p<0,05$ ) та відносної ( $r=-0,66$ ) кількості CD25+. Зменшення синтезу ІФН- $\alpha$  поєднувалося зі зменшенням відсотка CD3+ незалежно від фази реплікації вірусу, особливо у дітей третьої та четвертої вікових груп ( $r=0,64$ ,  $p=0,08$ ). Паралельно зі зменшенням рівня ІФН- $\alpha$  та CD3+ відбувалося значне зменшення кількості CD4+ незалежно від етіології, фази реплікації вірусу та віку дітей (відповідно  $r=0,48$  –  $r=0,64$ ).

Підвищення рівня  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові, хворих на ХВГ дітей, спричиняло збільшення як абсолютного ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ), так і відносного вмісту ( $r=0,39$ ,  $p<0,05$ ) CD16+, а також обернено корелювало з кількістю ІФН- $\alpha$ , що підтверджується результатами і наших досліджень, оскільки збільшення концентрації даного онкомаркери та показника ступеня фіброзу паралельно із зменшенням інтерферогенезу при ХВГ мало місце у дітей різного віку. При встановленні кореляційних зв'язків між біохімічними та імунологічними показниками з'ясовано, що активність АЛТ прямо корелювала з відсотком CD25+ ( $r=0,46$ ,  $p<0,05$ ), тобто цитолітичний синдром може посилюватись за рахунок активації даних субпопуляцій Т-лімфоцитів.

Отже, імунопатогенез ХВГ передусім визначається віком хворої дитини, що обумовлює певні особливості клінічної маніфестації, тяжкості перебігу та наслідки захворювання. Найбільш виразні порушення клітинного та гуморального імунітету розвиваються у дітей раннього віку та підлітків, що вказує на необхідність віднесення даних вікових груп до груп «ризик» несприятливого перебігу та прогнозу захворювання, і вимагає індивідуального підходу до патогенетичної терапії ХВГ у дітей різного віку. А для цього крім вікових особливостей дитячого організму необхідно глибоко розуміти і диференційовано враховувати фармакологічні ефекти різних лікарських

засобів, що використовуються для патогенетичної терапії даної патології. Для поглиблення інформації щодо фармакологічної дії дев'яти найбільш уживаних гепатопротекторів нами проведені експериментальні дослідження у порівняльному аспекті.

Отримані дані результати експериментальних досліджень свідчать про те, що ефективність гепатопротекторів при ХТГ у відношенні до різних показників білкового, ліпідного обміну, ПОЛ, синдрому цитолізу та холестазу є неоднозначною та розподіляється наступним чином.

Так вітчизняний синтетичний гепатопротектор антраль завдяки покращенню білоксинтезуючої функції печінки достовірно та суттєво підвищував вміст загального білка крові, зменшував прояви ХС, про що свідчило зниження рівня загального та прямого білірубіну, покращував ліпідний обмін, шляхом зниження рівня  $\beta$ -ліпопротеїнів, достовірно зменшував виразність ЦС, доказом чого було суттєве зниження активності АЛТ та АСТ, а також проявів МЗС, зменшуючи тимолову пробу ( $p < 0,001$ ) та вміст сироваткових IgA, IgM та IgG. Вказані біохімічні показники засвідчують потужні протизапальні, антихолестатичні, мембраностабілізуючі лікувальні властивості даного препарату і підтверджують літературні дані [226, 244, 245].

Гепатопротектор біциклोल на основі шизадрину (синтетичний аналог діючої речовини Китайського лимонника), нормалізував уміст загального білка в крові в основному за рахунок підвищення фракції альбумінів, достовірно і значно знижував рівень основних індикаторів синдрому цитолізу та холестазу, а саме АЛТ, АСТ, ЛФ, ГГТП. Препарат зменшував виразність запального процесу у печінці, свідченням чого було достовірне зменшення показника тимолової проби, вмісту IgA, IgM та IgG. Біциклोल, за даними біохімічних досліджень, як і антраль володіє виразною антицитолітичною, антихолестатичною та протизапальною активністю, а також покращує білоксинтетичну функцію печінки, що перекликається з даними [29, 77, 447, 543].

Синтетичний стереоізомер урсодезоксихолієвої кислоти – урсохол також достовірно збільшував кількість загального білка та сироваткових альбумінів, зменшував вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів сироватки крові, активність ЛФ, АЛТ, АСТ, величину тимолової проби та вміст усіх імуноглобулінів, які досліджувалися, що свідчило про хороші протизапальні, антихолестатичні, антицитолітичні ефекти даного препарату, а також про відновлення білоксинтезуючої функції, що представлено і у роботах [484, 526].

Вітчизняний синтетичний препарат тіотриазолін достовірно підвищував лише кількість загального білка ( $p < 0,005$ ), але співвідношення альбумінів до глобулінів не відрізнялося від групи порівняння. Препарат зменшував вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $p < 0,05$ ), величину тимолової проби ( $p < 0,01$ ) та IgA ( $p < 0,01$ ), активність АСТ ( $p < 0,01$ ), що вказувало на помірну протизапальну та мембраностабілізуючу протекторну дію препарату, що частково узгоджується з даними [51, 83].

Найкращий білоксинтезуючий ефект отримано при застосуванні гепатопротектору на основі ЕФ – есенціале форте Н. Так при його застосуванні ми спостерігали достовірно більшу кількість загального білка ( $p < 0,001$ ) та альбумінів ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з тваринами групи порівняння. Препарат достовірно зменшував вміст сироваткових  $\beta$ -ліпопротеїнів, загального і прямого білірубину, знижував активність АЛТ та ГГТП. Препарат зменшував виразність МЗС, про що свідчило достовірне зниження рівня сироваткових IgA, IgM та IgG. Отже, протекторні властивості препарату підтверджуються в першу чергу покращенням білоксинтезуючої функції печінки, зниженням виразності синдромів цитолізу, холестазу та мезенхімального запалення, на що також вказують [43, 83, 313].

Вітчизняний препарат на основі амінокислот глутаргін теж чинив позитивний вплив на білковий обмін та зменшував показники ЦС. Так при застосуванні даного препарату достовірно підвищувався вміст загального білка, у тому числі альбумінів, знижувались такі біохімічні маркери МЗС, як тимолова проба, IgA, IgM, нормалізувалися деякі маркери цитолітичного

(АСТ) та холестатичного (ГГТП) синдромів. Це вказувало на помірні протекторні властивості даного препарату, що частково узгоджується з даними літератури [83, 107]. Однак такі показники, як загальний та прямий білірубін, ЛФ та вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів після припинення лікування не поверталися до норми.

Рослинний препарат із розторопші плямистої дарсіл призводив не лише до достовірного підвищення рівня загального білка й альбуміну, а і до нормалізації А/Г коефіцієнту ( $p < 0,05$ ), достовірно знижував активність трансаміназ та величину тимолової проби. Отже, основними протекторними властивостями дарсілу є анаболічна дія за рахунок достовірного збільшення синтезу загального білка, альбумінів, відновлення А/Г коефіцієнту, а також мембраностабілізуюча, на що вказувало зменшення виразності ЦС (АЛТ, АСТ), що перекликається з даними [54, 83, 162, 216]. Проте ми не виявили у препарату значної антихолестатичної та протизапальної дії.

Інший рослинний препарат на основі екстракту артишоку був також ефективним у відношенні покращення білоксинтезуючої функції, оскільки він сприяв нормалізації вмісту загального білка та альбумінів. Препарат нормалізував біохімічні та імунні маркери МЗС (тимолова проба, IgA, IgG) та цитолізу (АЛТ). Потужних антихолестатичних властивостей у даного препарату, у порівнянні з антралем, урсохолом, есенціалє та біциклолом, нами не було виявлено. Антицитолітичні, протизапальні та дезінтоксикаційні властивості у вказаного препарату спостерігали також [83].

Застосування гомеопатичного препарату галстена при експериментальному ХТГ сприяло неоднозначному впливу на білковий обмін. Спостерігали достовірне та суттєве підвищення рівня загального білка крові як за рахунок альбумінів, так і глобулінів, що не викликало відновлення А/Г коефіцієнту. Галстена достовірно зменшувала вміст IgA та IgG, тобто серологічні маркери виразності запального процесу у печінці, проте не виявляла позитивного впливу на ліпідний обмін та на показники, які характеризують синдроми цитолізу та холестазу. Отже, нами виявлені



протекторні властивості галстени у відношенні протизапальної дії та білоксинтезуючої функції печінки, що не протирічить даним інших авторів [50, 83].

Таким чином, за отриманими нами результатами біохімічних досліджень сироватки крові, щодо вмісту сироваткових імуноглобулінів, можна стверджувати, що найбільшим протизапальним ефектом володіють : урсохол, есенціалє, біциклол та антраль. Меншу здатність пригнічувати мезенхімальне запалення у печінці мають : артишок, глутаргін та галстена. Ще менший лікувальний ефект стосовно зменшення виразності даного синдрому нами виявлено при застосуванні тіотриазоліну та дарсілу.

Екстраполюючи отримані в експерименті на статевонезрілих щурах результати дослідження лікувальної ефективності гепатопротекторів у порівняльному аспекті на хворих на ХВГ дітей ми пропонуємо деякі рекомендації, а саме при переважанні у клінічному перебігу ХС препаратами вибору можуть бути : антраль, біциклол, урсохол, есенціалє та дарсіл. При домінуванні ЦС слід призначати ті ж препарати, за винятком дарсілу, який володіє слабкими мембраностабілізуючими властивостями. При виразних клінічних та біохімічних проявах запалення застосування антралю, біциклолу, урсохолу, есенціалє, глутаргіну, артишоку та галстени допоможе у патогенетичній терапії ХВГ у дітей. При порушенні білоксинтезуючої функції печінки найбільш ефективним буде призначення рослинного гепатопротектору дарсілу, а також артишоку, галстени, есенціалє та біциклолу. Покращують ліпідний обмін синтетичні гепатопротектори, зокрема антраль, тіотриазолін, а також препарат на основі жовчних кислот –урсохол та ЕФ – есенціалє.

Усі гепатопротектори, які досліджувалися, достовірно у порівнянні з нелікованими тваринами пригнічували процеси ПОЛ, про що свідчило зниження вмісту МДА у сироватці крові піддослідних тварин. Найбільш виразною антиоксидантною дією, за нашими результатами, володіє антраль, який достовірно перевищував антиоксидантні ефекти дарсілу ( $p < 0,05$ ), есенціалє ( $p < 0,05$ ) та урсохолу ( $p < 0,05$ ). Друге місце за здатністю інгібувати

процеси ПОЛ займає біциклол. Це дозволяє рекомендувати антраль та біциклол у якості потужних антиоксидантів і відповідає даним інших авторів [29, 77, 144, 226, 244, 447, 543].

Враховуючи, що передумовою хронізації патологічного процесу в печінці є недостатність репаративної регенерації [32, 229, 430], актуальним є дослідження її клітинних механізмів та вивчення медикаментозної стимуляції [165, 166, 202]. На нашу думку, у зв'язку із великою складністю пошуку донорів, більш оптимальним варіантом лікування ХВГ у дітей є комплексна фармакологічна корекція порушених функцій печінки, спрямована не лише на ліквідацію чи зменшення виразності основних клініко-біохімічних проявів патології, а й на покращення репаративної регенерації ушкодженої тканини печінки.

Дослідження за допомогою МПЦ S-фази КЦ ядер клітин печінки статевонезрілих щурів із ХТГ в умовах лікування показало, що синтетичний препарат біциклол найбільш інтенсивно посилював процеси синтезу ДНК у ядрах гепатоцитів, дещо меншою мірою - тіотриазолін, есенціалє, дарсіл.

При ушкодженні печінки статевонезрілих щурів тетрахлорметаном, який вводили інтрагастрально протягом шести місяців, МПЦ встановлено, що кількість ядер клітин, які перебували у фазах  $G_0$ - $G_1$ , була достовірно меншою, що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які є найбільш чутливими до дії ушкоджуючих факторів, а також мобілізації резервів ( $G_0$  фаза) для забезпечення регенерації.

Особливу увагу ми звертали на зміни S-фази КЦ, оскільки саме цей показник використовується як основний параметр оцінки регенераційного статусу [436, 541]. Так при ХТГ у тварин групи порівняння кількість ядер печінкових клітин, які перебували у S-фазі, була більшою в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), що доводить посилення синтезу ДНК у відповідь на альтерацію, тобто відбувається компенсаторна активація процесів репаративної регенерації клітин печінки. У тварин із ХТГ, які не отримували лікування, спостерігалася тенденція до більшого відсотка ядер у інтервалі  $G_2M$  та достовірно зростання

PI, що свідчило про наявність репаративної регенерації клітин печінки у відповідь на дію гепатотоксинів.

Альтерація паренхіми печінки гепатотоксинами, яка проявляється процесами некроаптозу і одночасно активує КЦ, тобто перехід клітин з фази спокою ( $G_0$ ) у фази  $G_1$ , S,  $G_2M$ , свідчить про включення захисних механізмів, спрямованих на збереження цілісності органу.

При порівнянні впливу різних гепатопротекторів на інтервал КЦ  $G_0-G_1$ , відстежується наступна закономірність. Усі досліджувані препарати, за артишоку, суттєво збільшували відсоток ядер у даній фазі, при цьому ступінь достовірності становив  $<0,01$  у порівнянні з нелікованими тваринами. Це засвідчує посилення диференціації та функціональної спеціалізації гепатоцитів, які не мали незворотного ушкодження. Суттєве збільшення диплоїдних ядер гепатоцитів у фазі  $G_1$  у порівнянні не лише з нелікованими тваринами, а і з контролем, на наш погляд, слід розцінювати як процес компенсації спеціалізованої функції, коли дистрофічно змінені гепатоцити не можуть виконувати її в повному обсязі. Ми розглядаємо це як позитивний вплив ряду гепатопротекторів. Найбільша кількість ядер, які перебували у фазі  $G_0-G_1$ , була зареєстрована при застосуванні вітчизняного синтетичного гепатопротектору тіотриазолін. Тоді як при застосуванні біциклолу та есенціале відсоток ядер у даній фазі був достовірно менший.

Заслуговує на увагу слабкий вплив тіотриазоліну на мітотичну активність, який майже у два рази ( $p<0,01$ ) зменшував відсоток ядер у інтервалі  $G_2M$ , незважаючи на достатньо великий відсоток ядер у S-фазі, і в цьому проявлялася зворотна залежність із впливом на інтервал  $G_0-G_1$ . Можливо цей ефект слід враховувати при виборі гепатопротектора для лікування ХВГ з ознаками гіперплазії органу, або при підозрі на малігнізацію. Нами встановлено, що артишок зовсім не впливає на мітотичний потенціал, оскільки показник  $G_2M$  достовірно не відрізнявся від аналогічного у нелікованих тварин.

Подібна динаміка простежувалася і по відношенню до PI, оскільки констатовано, що даний показник прямо корелював з інтервалом  $G_2M$  %

( $r=0,97$ ,  $p<0,001$ ). Порівнюючи величини PI в залежності від вибору гепатопротектору, встановлено, що за здатністю до його зниження антраль, біциклол, глутаргін, дарсіл, есенціалє, урсохол, тіотриазолін та галстена з однаковим ступенем достовірності ( $p<0,05$ ) перевищували аналогічний ефект у артишоку. Найнижчий показник мітотичної активності (інтервал  $G_2M$ ), так і PI, зареєстровано нами і при застосуванні тіотриазоліну.

Уведення гепатотоксинів статевонезрілим щурам спричиняло фрагментацію ядерної ДНК клітин паренхіми печінки. Свідченням цього у нелікованих тварин було збільшення RN-інтервалу на гістограмах зростання у 2 рази ( $p<0,001$ ) рівня фрагментації ДНК ядер, що, за даними [127, 441], свідчить про розвиток незворотного ушкодження клітин, тобто патогенно індукованого апоптозу. Між показником фрагментації ДНК та фазою синтезу ДНК (S-фаза) встановлено прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,28$ ,  $p<0,001$ ). Тобто посилення патогенно індукованого апоптозу, який синхронно з некрозом відбувався у тканині печінки в умовах поєднаної дії  $CCl_4$  та етанолу, прямо корелював із компенсаторним посиленням фази синтезу ДНК у гепатоцитах, проте воно було недостатнім для повного відновлення структури і функції органу.

Серед тварин, які отримували лікування, достовірно зменшення фрагментації ДНК на 45% у порівнянні з нелікованими тваринами відбувалось при введенні артишоку. Це вказує на пригнічення патогенно індукованого апоптозу і є, на наш погляд, позитивним патогенетичним механізмом дії, вперше нами встановленим як фармакологічний ефект у даного препарату, який спрямований на збереження маси органу. Достовірно зменшення фрагментації ДНК у порівнянні з тваринами із ХТГ, які не отримували лікування, виявлено також при введенні з лікувальною метою комплексного гомеопатичного препарату галстени. Отже, можна зробити висновок, що такі гепатопротектори, як артишок та галстена зменшують рівень фрагментації ДНК ядер печінкових клітин і володіють органозберігаючим ефектом в умовах дії гепатотоксинів.

При застосуванні біциклолу, дарсілу, есенціалє, урсохолу, тіотриазоліну та антралю фрагментація ДНК залишалася досить високою порівняно з

контролем. На нашу думку, вказані гепатопротектори не володіють достатнім антиапоптичним ефектом. Важливо відмітити, що у піддослідних тварин, які отримували глутаргін, субдиплоїдна ділянка виявилась навіть більшою, ніж у нелікованих тварин із ХТГ. Цей вітчизняний препарат, виготовлений на основі комбінації глутамінової кислоти та аргініну, є донатором оксиду азоту, у зв'язку із чим посилює патогенно індукований апоптоз при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів, що підтверджувалось як цитофлуориметрично, так і гістологічно. Збільшення фрагментації ДНК ядер при введенні даного препарату пояснюється посиленням апоптозу та некрозу клітин різних органів і тканин, у тому числі і тканини печінки, внаслідок підвищення у них кількості оксиду азоту, що призводить до розкриття мітохондріальних пор [539].

Ушкодження печінки  $CCl_4$ , яке проявлялося загибеллю клітин паренхіми, стимулювало регенерацію органу для відновлення його маси. Вважають, що основним джерелом відновлення маси печінки після її часткової резекції є проліферація зрілих диференційованих гепатоцитів. У літературі описано, що ці клітини здатні поєднувати тканинноспецифічні і проліферативні синтези. Тому головним механізмом збільшення кількості диплоїдних гепатоцитів в регенеруючій нормальній і патологічно зміненій печінці слід вважати їх проліферацію [202].

У наших експериментах у тварин із ХТГ, які не отримували лікування, спостерігали зменшення кількості 2с-гепатоцитів на 8,7 % ( $p < 0,05$ ), що свідчить про їх ушкодження, оскільки відомо, що вони є надзвичайно чутливими до дії патогенних чинників [3]. Паралельно відбувалося достовірне та значне збільшення кількості поліплоїдних клітин з кількістю ДНК у ядрі  $>8c$ . Отримані результати узгоджуються з даними літератури [22, 200, 322, 374], які також констатують зменшення кількості 2с та збільшення 8с клітин при альтерації печінки, що спричинено оксидативним стресом, який є своєрідним мітогеном і індукує збільшення плоїдності ДНК при виснаженні систем антиоксидантного захисту. Це може бути своєрідним захисним механізмом проти руйнування

клітин при дії ушкоджуючих чинників. Проте нами встановлено, що збільшення плоідності ДНК клітин печінки не веде до збільшення їх реплікативної здатності, а, навпаки, її знижує. Подібну закономірність пояснюють виснаженням проліферативного потенціалу поліплоїдних гепатоцитів при оксидативному ушкодженні [374]. Більша у порівнянні з нормою частка поліплоїдних клітин є характерною особливістю популяції гепатоцитів у патологічно зміненій печінці [201, 202].

У наших спостереженнях через шість тижнів від початку експерименту кількість ядер у S-фазі була у 1,5 раза більшою, ніж у контролі. Типовим варіантом регенерації ушкодженої печінки були поліплоїдизація ядер гепатоцитів з появою нетипових для здорових тварин відповідного віку ядер гепатоцитів із набором ДНК 32с, 64с і більше. У нелікованих тварин з  $CCl_4$ -індукованим ХТГ відсоток поліплоїдних (>8с) ядер був більшим у 2,2 рази ( $p < 0,01$ ), що підтверджувалося оберненим кореляційним зв'язком середньої сили між диплоїдним та поліплоїдним (>8с% набором ДНК ( $r = -0,61$ ,  $p < 0,001$ ) та узгоджується з даними літератури [22, 78, 200, 201, 202, 322, 374], які констатують аналогічне у статевозрілих тварин. Деякі автори розглядають поліплоїдію як механізм еволюційного пристосування, що відображає високий ступінь незворотної печінковоклітинної диференціації, який знижує ризик геномних ушкоджень печінки [511]. Збільшення кількості поліплоїдних гепатоцитів при етанол-індукованому гепатиті пояснюється як антирегенераторний ефект етанолу на гепатоцити [360].

Поліплоїдія, з одного боку, оцінюється як ознака виразного ушкодження і передчасного старіння гепатоцитів [78, 200, 201], оскільки вона обумовлена активацією ПОЛ, продукти якого є своєрідним стимулятором і можуть індукувати збільшення наборів ДНК [374, 482], з іншого – це є своєрідний захисний механізм на дію гепатотоксинів, адже відомо [3, 22], що поліплоїдні клітини є більш стійкими до дії патогенних чинників. Ми погоджуємось з останньою думкою. Поліплоїдія при ХТГ у статевонезрілих тварин є захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на виживання органу в

цілому, та для підтримання спеціалізованої функції. Поліплоїдизація є одним із механізмів репаративної регенерації гепатоцитів, який проявляється, наприклад, проліферацією та гіпертрофією [202].

Таким чином, за даними цитофлуориметричного дослідження ядер печінкових клітин, можна стверджувати, що одним із механізмів репаративної регенерації печінкових клітин нелікованих статевонезрілих щурів при  $CCl_4$ -індукованому хронічному ушкодженні є поліплоїдизація ядер гепатоцитів. Він не є достатньо ефективним і не може забезпечити повну регенерацію ушкодженої печінки, оскільки гепатоцити із високим рівнем плоїдності володіють меншою проліферативною здатністю [202, 360, 374]. У наших спостереженнях проліферація спеціалізованих диплоїдних печінкових клітин не була достатньою, що створювало умови для розвитку ЦП.

При аналізі результатів дослідження плоїдності набору ДНК в ядрах гепатоцитів на тлі лікування ХТГ гепатопротекторами виявлено, що у тварин 3-11 піддослідних груп кількість диплоїдних ядер була достовірно більшою, ніж у нелікованих тварин. За активністю впливу на даний показник гепатопротектори можна розмістити в наступному порядку: тіотриазолін > глутаргін > антраль > біциклол > галстена > дарсіл > есенціалє > урсохол > артишок. Збільшення відсотка гепатоцитів з диплоїдними ядрами у піддослідних тварин, які отримували тіотриазолін, глутаргін, антраль, біциклол, галстену, дарсіл та есенціалє, ми оцінюємо як позитивний лікувальний ефект, оскільки повноцінна репаративна регенерація печінки відбувалося головним чином за рахунок проліферації саме клітин з набором хромосом 2с. Вона спрямована на збереження не лише маси, а і спеціалізованої функції ушкодженого органу.

Отже, за здатністю до збільшення кількості диплоїдних клітин у печінці, найбільшим ефектом володіє тіотриазолін, який достовірно переважав аналогічний ефект у артишоку, есенціалє та урсохолу. На нашу думку, це не є доказом гіршої ефективності перерахованих гепатопротекторів, а лише пов'язано з різними механізмами їх фармакологічної дії.

Із застосуванням МПЦ встановлено, що при застосуванні глютаргін, дарсілу та тіотриазоліну наступала достовірна деполіплоїдизація. Відсоток ядер клітин печінки з набором ДНК  $>8c$  у тварин даних груп був у 2-3 рази нижчий, ніж у тварин з ХТГ, які не отримували лікування. Аналогічна, проте дещо менша тенденція, була зареєстрована при лікуванні антралем, біциклолом, урсохолом та галстеною. Зменшення кількості нетипових для статевонезрілих щурів поліплоїдних ( $>8c$ ) ядер ми розцінюємо як позитивний вплив препаратів, спрямований на інтенсифікацію репаративної проліферації диплоїдних клітин, як основного механізму регенерації, здатного відновити функції органу в повному об'ємі.

У більшості тварин піддослідних груп, які отримували лікування (антраль, біциклол, глютаргін, дарсіл, есенціалє, тіотриазолін, галстену), ми виявили зниження середнього рівня плоїдності популяції гепатоцитів. Це досягалося головним чином за рахунок високої проліферативної активності клітин із диплоїдними ядрами, що, безсумнівно, свідчить про збереження ушкодженим органом регенеративного потенціалу. Проте, не виключено, що підвищений рівень проліферативної активності цих клітин на певному етапі, коли була досягнута достатня маса паренхіми печінки, може стати процесом, який гальмує подальшу функціональну нормалізацію через конкурентні відносини між тканинносPECIFIC та проліферативними синтезами [202].

Завдяки МПЦ встановлено, що плоїдність ДНК у більшості клітин печінки піддослідних тварин із ХТГ, які отримували антраль, біциклол, глютаргін, дарсіл, есенціалє, тіотриазолін та галстену, була представлена диплоїдним набором ДНК у ядрі, КЦ перебував переважно в інтервалі  $G_0-G_1\%$ , тобто збільшення набору ДНК у ядрах гепатоцитів даних груп тварин не відбувалося. Якщо врахувати, що клітини з диплоїдними ядрами вступають в мітотичний цикл активніше за поліплоїдні, то проліферативний потенціал різних субпопуляцій гепатоцитів в умовах лікування ХТГ може відрізнитися у декілька разів [374, 378]. Але зменшення середнього рівня плоїдності популяції може відбуватися і за рахунок переважної загибелі поліплоїдних гепатоцитів



[374, 482]. Отримані дані показали, що проліферація гепатоцитів відбувається в основному за рахунок диплоїдних клітин, які перебувають у  $G_1$  фазі КЦ.

Звертаємо увагу, що у тварин із ХТГ, які отримували есенціале та артишок, як і у нелікованих, спостерігалось збільшення частки поліплоїдних клітин у тому числі і внаслідок появи класів плоїдності  $32c$  і більше, які в печінці статевонезрілих щурів контрольної групи не зустрічались. Поліплоїдизація ДНК ядер гепатоцитів на тлі застосування вказаних двох препаратів не може мати однозначну оцінку. З одного боку, це явище негативне, оскільки поліплоїдні клітини гірше виконують спеціалізовану функцію, ніж диплоїдні [3], з іншого – це один із варіантів репаративної регенерації, тобто компенсаторно-приспосувальний механізм відновлення маси органу. Із негативних моментів слід мати на увазі, що у поліплоїдних ядрах частіше виникають зміни генетичного матеріалу, що може спричинити пухлинний ріст [511], або збільшення достовірності вступання клітин в апоптоз [482]. Посилення процесів регенераційної поліплоїдизації може бути ознакою такого механізму як регенераційна гіпертрофія.

При обчисленні важливого показника регенерації – співвідношення між  $2c\%$  та  $4c\%$  ядрами – встановлено його зниження у нелікованих тварин внаслідок зменшення відносної кількості диплоїдних ядер та одночасного збільшення відсотка тетраплоїдних ( $r=-0,93$ ,  $p<0,001$ ). Це може свідчити про пригнічення регенерації ушкодженого органу, а саме проліферації спеціалізованих гепатоцитів, або переважну загибель  $2c$ -гепатоцитів, спричинену впливом гепатотоксинів.

Застосування гепатопротекторів, як засобів лікування ХТГ, суттєво корегувало  $2c/4c$  співвідношення. Зокрема, при введенні антралю воно дорівнювало 7,1, біциклолу – 6,32, глутаргіну – 6,95, дарсілу – 6,27, есенціале – 6,50, тіотриазоліну – 5,63, галстени – 5,68, що майже удвічі перевищувало аналогічний показник у нелікованих (3,25), та у 1,5 раза – у інтактних щурів (4,28), що свідчить про мембраностабілізуючу дію або про активацію процесів проліферації диплоїдних гепатоцитів при застосуванні даних препаратів.

Посилена регенерація шляхом проліферації диплоїдних гепатоцитів при введенні антралю та біциклолу підтверджувалась гістологічним дослідженням. Оскільки саме диплоїдні клітини активніше вступають в КЦ і сприяють відновленню маси та спеціалізованої функції ушкодженого органу [374], то такий результат дії гепатопротекторів є позитивним. Ряд авторів оцінюють збільшення 2с/4с як ознаку хорошої регенерації, що підтверджується переходом гепатоцитів з фази спокою  $G_0$  у наступні фази КЦ:  $G_1$ , S,  $G_2$ -M [202, 296, 450, 542].

Позитивна дія гепатопротекторів проявлялася зменшенням фрагментації ядерної ДНК. Враховуючи, що основним шляхом загибелі гепатоцитів при ХВГ В та С є апоптоз [17, 106, 289, 371, 445], то встановлений потужний антиапоптичний ефект у артишоку та галстени робить перспективним їх застосування при посиленні патогенно індукованого апоптозу у дітей із ХВГ, оскільки, відповідно до принципів сучасної молекулярної терапії фіброзу і захворювань печінки, лікування має бути спрямоване на пригнічення апоптозу гепатоцитів [477].

Встановлені кореляційні зв'язки між відсотками 2с та 4с наборів ядерної ДНК ( $r=-0,93$ ,  $p<0,001$ ), між 2с та 8с ( $r=-0,67$ ,  $p<0,001$ ), між 2с та  $> 8с$  ( $r=-0,61$ ,  $p<0,001$ ) теж дозволяють стверджувати, що посилення поліплоїдизації ядер гепатоцитів та зменшення відсотка 2с-ядер при дії гепатотоксинів у статевонезрілих тварин, які не отримували лікування, і свідчать про гальмування репаративної регенерації печінки.

Встановлено, що кількість альбумінів у плазмі крові обернено корелювала з відсотком ядер гепатоцитів, які перебували у S-фазі КЦ ( $r=-0,8$ ,  $p<0,05$ ), і, навпаки, прямо корелювала з інтервалом  $G_2$ M ( $r=0,76$ ,  $p<0,05$ ). Тобто, посилення синтетичних процесів у ядрі гепатоцитів зменшувало функціональну активність клітин печінки у відношенні синтезу альбумінів, який відновлюється після закінчення S-фази та настання  $G_2$ M інтервалу КЦ. Ми констатуємо, що при збільшенні відсотка октаплоїдних ядер зменшувалась кількість альбуміну ( $r=-0,74$ ,  $p<0,05$ ), що пов'язано із гіршим виконанням спеціалізованої функції

клітинами, які вміщують поліплоїдні ядра [3]. Сильні обернені кореляційні зв'язки існували між відсотком 2с-ядер та активністю АЛТ ( $r=-0,73$ ,  $p<0,05$ ), 2с % та активністю ЛФ ( $r=-0,75$ ,  $p<0,05$ ), що показує негативний вплив даних ферментів на стан і проліферацію диплоїдних гепатоцитів.

Доведено, що виразність ЦС, свідченням якого було підвищення активності АЛТ і АСТ, зростала паралельно із посиленням фрагментації ДНК ядер гепатоцитів ( $r=0,66$ ,  $p<0,01$  для АСТ). Ці процеси відбувалися паралельно із посиленням синтезу ДНК у ядрі ( $r=0,24$ ,  $p=0,065$  для АСТ), що можна оцінити, як компенсаторно-приспосувальну реакцію у відповідь на альтерацію.

Патологічна поліплоїдизація ДНК ядер гепатоцитів ( $>8с$ ) на тлі введення гепатотоксинів статевонезрілим щурам прямо корелювала з посиленням процесів цитолізу та холестазу, про що свідчило збільшення активності ГГТП у патологічно зміненій печінці ( $r=0,87$ ,  $p=0,054$ ).

Збільшення виразності ЦС, свідченням чого було зростання активності АЛТ, поєднувалося зі зменшенням РІ гепатоцитів ( $r=-0,78$ ,  $p<0,05$ ) та посиленням синтезу глобулінів у печінці ( $r=-0,77$ ,  $p<0,05$ ), і підтверджувалося наявністю ознак синдрому мезенхімального запалення.

Підвищення рівня МДА у сироватці крові статевонезрілих щурів із ХТГ корелювало зі збільшенням відсотка октаплоїдних ядер ( $r=0,95$ ,  $p<0,051$ ), що доводить вплив процесів ПОЛ на активацію поліплоїдизації [374].

Більший відсоток ядер у пресинтетичній фазі, який було зареєстровано при введенні експериментальним тваринам урсохолу на тлі зменшення рівня прямого білірубіну ( $r=0,9$ ,  $p<0,05$ ), активності АЛТ ( $r=0,9$ ,  $p<0,05$ ) та ГГТП ( $r=0,97$ ,  $p<0,01$ ), доводить високу лікувальну ефективність даного препарату.

Встановлено, що синтетичний гепатопротектор біцикллол, створений на основі шизадрину, а також вітчизняні синтетичні препарати антраль та тіотриазолін володіють фармакологічним ефектом, який полягає в підсиленні синтезу ядерної ДНК гепатоцитів, що значно підсилює їх потенціал до проліферації. На нашу думку, при потребі посилення даного ефекту, з метою

активації процесів відновлення маси органу, дані препарати можна рекомендувати коротким курсом.

Гепатопротектори дарсил, глутаргін, тіотриазолін, антраль, урсохол, біциклол та галстена теж володіють даним фармакологічним ефектом, але у меншому ступені.

При потребі тривалого призначення гепатопротекторів слід застосовувати ессенціале, урсохол, дарсил, які більш помірно впливають на КЦ гепатоцитів, незначно посилюючи синтетичні та мітотичні процеси в ядрах гепатоцитів, що необхідно для попередження неконтрольованого збільшення маси органу.

На основі проведених морфологічних досліджень, вперше встановлено, що при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів розвивається значне порушення синтезу тканинної рідини та лімфообігу у вигляді набряку, збільшення кількості функціонуючих лімфатичних судин з наявністю лімфангіектазій. Це суттєво може впливати на фіброгенез у печінці, а тому потребує медикаментозної корекції.

При лікувально-профілактичному застосуванні вітчизняного синтетичного гепатопротектору антраль нами було зареєстровано позитивні фармакологічні ефекти, які полягали у зменшенні запальної інфільтрації, холестазу, зниженні виразності альтеративних змін (дистрофії та некрозу), що доводить значні протизапальні, мембраностабілізуючі, регенераційні та детоксикаційні ефекти у даного препарату.

Рослинний гепатопротектор артишок виявляв незначні протизапальні та антифіброзні властивості, але позитивно впливав на метаболізм, регенерацію, дещо пригнічував розвиток жирової дистрофії. Він суттєво гальмував синтез тканинної рідини і розвиток набряку, а цей процес може впливати на евакуацію жовчі та сприяти антихолестазу.

Біциклол, що є одним із ефективних гепатопротекторів, проявляв суттєві фармакологічні ефекти, які полягали у протизапальній, дезінтоксикаційній, мембраностабілізуючій (антицитолітичній) діях. Препарат значно посилював

регенерацію та проявляв антифіброзні властивості і може застосовуватись у педіатричній практиці як під час загострення ХГ, так і при розвитку ЦП.

Уведення статевонезрілим щурам із ХТГ глутаргіну призвело до покращення мікроциркуляції, процесів регенерації та метаболізму у печінці і, в першу чергу, ліпідного обміну, до зменшення дистрофії та некрозу у порівнянні з нелікованими тваринами, тобто препарат виявляє мембраностабілізуючу та дезінтоксикаційну дію. Низький протизапальний ефект у даного гепатопротектора, а також здатність посилювати апоптоз гепатоцитів, обмежує, на нашу думку, застосування даного препарату у дітей.

Фармакологічні ефекти рослинного гепатопротектора дарсілу були близькими до таких у артишоку, тобто препарат виявляв помірний протекторний ефект, що полягає у помірній стимуляції регенерації ушкодженого органу та антифіброзній дії [41].

Введення піддослідним тваринам есенціалє з лікувально-профілактичною метою проявляло хороші протекторні мембраностабілізуючі властивості ЕФ, які проявлялися збереженням архітектоніки печінки, зменшенням набряку, некрозапальної активності та дистрофії. Застосування есенціалє при експериментальному ХТГ на стадії формування ЦП значно гальмувало прогресивність некрозапальних і фіброзних процесів та підвищувало активність внутрішньоклітинної репарації гепатоцитів і регенерації органу в цілому, що переключається з даними [41]. Тому ми вважаємо, що він показаний для застосування як на початкових стадіях розвитку ХТГ, так і на стадії розвитку ЦП.

Синтетичний препарат тіотриазолін проявляв помірну протизапальну, антифіброзну, мембраностабілізуючу та дезінтоксикаційну дію, про що свідчить несуттєве пригнічення дистрофічних змін у клітинах, проте він значно стимулює регенерацію ушкодженого органу за рахунок проліферації диплоїдних гепатоцитів.

Препарат урсохол в експерименті з моделюванням ХТГ у статевонезрілих щурів проявив високі протекторні властивості, зокрема детоксикаційні,

мембраностабілізуючі, антицитолітичні, антихолестатичні, які полягали у мінімізації некротичних та дистрофічних змін у гепатоцитах. Протизапальна дія препарату була помірною і поступалася такій у антралю та біциклолу. Він мав достатній антифіброзний ефект, що, на нашу думку, проявлялося суттєвим пригніченням таких предикторів фіброзу, як холестаза, крововиливи, набряк, альтеративні зміни, що узгоджується з даними інших авторів [41].

Гомеопатичний препарат з гепатопротекторами властивостями галстена мав помірний протизапальний, мембраностабілізуючий, метаболічний, антифіброзний та регенераційний фармакологічні ефекти, які краще проявлялися при тривалому застосуванні, тому може бути використаний, як лікувальний засіб, при довготривалому лікуванні хронічного гепатиту та на стадії формування ЦП.

Через чотирнадцять тижнів від початку експерименту, після шести тижневого «відпочинку», у печінці піддослідних щурів характерними ознаками ЦП, що сформувався на тлі ХТГ, були : наявність сполучнотканинних септ з облітерацією центральних вен та формуванням псевдочасточок. Спонтанна регенерація у даному випадку відбувалася переважно за рахунок поліплоїдизації та гіпертрофії гепатоцитів. Застосування таких гепатопротекторів, як : антраль та біциклол, а також меншою мірою урсохол, ессенціалє, глутаргін зменшує виразність фіброзу печінки, що вказує на наявність у даних препаратів антифіброзного ефекту та дозволяє рекомендувати їх використання при хронічних гепатитах для профілактики фіброзу печінки, а також на стадії сформованого ЦП для попередження його прогресивності та прогресування гепатоцелюлярної печінкової недостатності.

Резюмуючи в цілому результати проведених експериментальних досліджень з моделюванням ХТГ у статевонезрілих щурів та вивчення у порівняльному аспекті ефективності гепатопротекторів з метою розробки нових підходів до патогенетичної терапії ХВГ у дітей слід заключити, що визначальним позитивним чинником є вплив препаратів на процеси репаративної регенерації гепатоцитів, зокрема на активність проліферативних

процесів у печінці, основними показниками якої є збільшення відсотка диплоїдних гепатоцитів та посилення синтезу ядерної ДНК.

Розкриття фундаментальних основ впливу гепатопротекторів на процеси, що відбуваються в ядрі гепатоцитів, а саме зміна фаз клітинного циклу, фрагментація ДНК, плоїдність набору ДНК, дозволить поглибити інформацію щодо патогенезу ХТГ та ЦП, а також удосконалити патогенетичну терапію ХВГ у дітей різного віку, покращити прогноз та наслідки даної патології, зменшити летальність.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано вирішення наукової проблеми, яка полягає у розкритті нових, невідомих раніше вікових особливостей патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей, отриманих на основі теоретичного підходу, експериментальних та клінічно-морфологічних досліджень з урахуванням стану цитокинової регуляції, особливостей функціонування клітинної і гуморальної ланок імунітету. Вперше досліджено вплив гепатопротекторів на процеси репаративної регенерації, фрагментацію та плоїдність набору ядерної ДНК гепатоцитів, що є необхідним для пізнання механізмів розвитку та розробки нових підходів до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів у дітей.

1. Виразність клініко-лабораторних синдромів і симптомів хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей прогресує зі збільшенням віку і тривалості захворювання та досягає максимуму у підлітковому віці, що підтверджується наростанням проявів печінково-клітинної недостатності, пов'язаної з посиленням цитолізу гепатоцитів та заміщенням паренхіми сполучною тканиною.

2. У фазі реплікації вірусу достовірно вища ( $p < 0,01-0,001$ ) концентрація прозапальних (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8) та профіброгенного TGF- $\beta$ 1 цитокінів, ніж у фазу інтеграції/латентну стадію, при якій збільшується вміст протизапального цитокіну IL-10. Незалежно від фази реплікації вірусу відбувається зменшення продукції IFN- $\alpha$  і збільшення – IFN- $\gamma$ , а також на тлі зменшення кількості CD3+ та CD4+ відбувається активація цитотоксичних реакцій, спричинених CD8+. У фазу реплікації достовірно зменшується відсоток CD16+, що посилюється у фазу інтеграції/латентну стадію як в абсолютних (на 29,1 %,  $p < 0,001$ ), так і у відносних (на 32,1 %,  $p < 0,001$ ) величинах та пригнічує елімінацію вірусів.

3. Зростання активності запального процесу у печінці при хронічних вірусних гепатитах В та С у дітей поєднується з достовірним ( $p < 0,001$ ) збільшенням концентрації прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$  – у 11 разів, IL-2 – у 4,1 раза, IL-6 – у 6,7 раза, IL-8 – у 9 разів), IGF-1 – у 2 рази ( $p < 0,001$ ), TGF- $\beta$ 1 –



на 7,0 % ( $p < 0,05$ ), а також зменшенням продукції протизапального цитокіну IL-4 у 2 рази ( $p < 0,05$ ). Збільшення вмісту IL-2 прямо корелює зі збільшенням кількості CD25+ ( $r = 0,32$ ). Зі зростанням активності запалення нормалізується вміст CD16+, але збільшується кількість CD8+, які посилюють синдром цитолізу, як в абсолютних (на 33,0 %;  $p < 0,05$ ), так і у відносних (на 22,1 %;  $p < 0,01$ ) показниках ( $r = 0,86$ ).

4. У дітей першого року життя, інфікованих перинатально, патогенетично значимим є гіперпродукція прозапальних (TNF- $\alpha$  – у 11 разів,  $p < 0,001$ ; IL-2 – у 6 разів,  $p < 0,05$ ; IL-6 – у 4 рази,  $p < 0,001$ ; IL-8 – у 15 разів,  $p < 0,001$ ), компенсаторне збільшення вмісту протизапального IL-10 (у 4,4 раза,  $p < 0,01$ ) та профіброгенного TGF- $\beta$ 1 (на 22,3 %,  $p < 0,001$ ) цитокінів на тлі зменшення ІФН- $\alpha$  (у 6 разів,  $p < 0,01$ ), що визначає умови для первинної хронізації процесу та швидких темпів формування цирозу печінки. Зі збільшенням віку дітей, особливо у підлітків, цитокіновий дисбаланс зменшується, нормалізується продукція прозапальних цитокінів на тлі достовірного збільшення вмісту протизапальних (IL-10 та TGF- $\beta$ 1), що віддзеркалює зміну активності Th з 1 типу на 2-ий і пояснює стихання виразності запалення. Збільшення концентрації IGF-1 у підлітків (у 2,5 раза,  $p < 0,001$ ) вказує на важливість даного фактору у прогресуванні хронічного вірусного гепатиту та ризику формування цирозу печінки.

5. Особливості імунопатогенезу хронічних вірусних гепатитів значною мірою визначаються віком хворої дитини. У дітей раннього віку виявлено зменшення кількості CD3+ та CD4+-лімфоцитів як в абсолютних ( $r = 0,99$ ), так і у відносних ( $r = 0,98$ ) показниках, а у підлітків – переважання активності Т-хелперів 2 типу та гуморальної ланки імунітету над клітинною, свідченням чого є достовірне зменшення співвідношення CD3+/CD22+ в обох вікових групах (у 1,5 раза – у дітей першого року, у 1,8 раза – у підлітків) за рахунок зменшення вмісту CD3+ та збільшення – CD22+ внаслідок гіперпродукції IL-6 ( $r = 0,52$ ). Зниження імунорегуляторного індексу у 1,7 раза ( $p < 0,001$ ) у дітей першого року та підлітків відбувається за рахунок пригнічення вироблення CD4+ Т-

хелперів ( $r=0,38$ ) та збільшення – CD8+ Т-лімфоцитів ( $r=-0,45$ ), що створює умови для посилення цитотоксичних реакцій, пояснює швидке прогресування захворювання та формування цирозу печінки у дітей першого року життя і підлітків та вимагає індивідуального підходу до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів у дітей різного віку.

6. Патоморфологічними особливостями вірусних гепатитів В та С у померлих дітей першого року життя є розвиток гігантоклітинного гепатиту з виразними ексудативними та альтеративними змінами у печінці, частий фульмінантний перебіг на тлі акцидентальної інволюції тимуса. Для підлітків типовим є розвиток цирозу печінки, і навіть, гепатоцелюлярної карциноми. Позапечінкові морфологічні зміни у нирках, головному мозку, легенях, підшлунковій залозі, тонкій кишці, посилюють несприятливий перебіг основного захворювання, ускладнюють діагностику і можуть спричинити летальні наслідки.

7. Встановлені критерії прогресивності перебігу хронічних вірусних гепатитів В і С та прогресування цирозу печінки у дітей різного віку, такі як збільшення вмісту  $\alpha$ -фетопротеїну та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну в сироватці крові понад допустимі нормативи, зниження співвідношень CD3+/CD22+ та CD4+/CD8+, зменшення синтезу ІФН- $\alpha$  та ІФН- $\gamma$ , збільшення концентрації протизапальних цитокінів IL-10 та TGF- $\beta$ 1, яке обернено корелює зі зменшенням відсотка CD3+ ( $r=-0,45$ ), CD4+ ( $r=-0,46$ ) та CD8+ ( $r=-0,49$ ). Для підлітків також має значення збільшення концентрації IGF-1.

8. Ефективність гепатопротекторів при лікуванні експериментального хронічного токсичного гепатиту різновекторна за напрямком та виразністю дії. Суттєвіше пригнічують виразність біохімічних маркерів синдрому холестазу та цитолізу такі потужні мембраностабілізатори, як антраль, біциклол, урсохол, ессенціалє. Синдром мезенхімального запалення краще інгібують крім названих препаратів глутаргін, артишок та галстена. Відновлення білоксинтезуючої функції інтенсивніше відбувається при застосуванні рослинних гепатопротекторів дарсілу та артишоку, а також галстени,

ессенціалє, біциклолу. Ліпідний обмін частково нормалізують : антраль, тіотриазолін, урсохол, есенціалє, але найбільш потужними антиоксидантами є антраль та біциклол.

9. Характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті є збільшення плоідності ядерної ДНК  $>8c$  (у 2,2 раза,  $p<0,01$ ), зменшення відсотку ядер в інтервалі  $G_0/G_1$  (на 7,1 %,  $p<0,01$ ), збільшення – у S-фазі (на 58,3 %,  $p<0,05$ ), збільшення індексу проліферації (на 23,0 %,  $p<0,01$ ) та фрагментації ядерної ДНК (у 2 рази,  $p<0,001$ ). Достовірна деполіплоїдизація настає при застосуванні дарсілу, глутаргіну, тіотриазоліну. Зменшення фрагментації ядерної ДНК виявлено при застосуванні екстракту артишоку (у 1,8 раза,  $p<0,05$ ) та галстени (у 1,5 раза,  $p<0,01$ ). Донатор оксиду азоту глутаргін, збільшуючи фрагментацію ДНК (у 2,7 раза,  $p<0,01$  проти контролю), посилює патогенно індукований апоптоз.

10. Активація репараційної регенерації гепатоцитів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті на тлі застосування гепатопротекторів біциклол та тіотриазолін відбувається шляхом посилення синтезу ядерної ДНК (відповідно у 1,8 раза,  $p<0,01$  та у 1,5 раза,  $p<0,05$ ). Активація проліферації спеціалізованих гепатоцитів, що підтверджується збільшенням співвідношення  $2c/4c$ -гепатоцитів у 2 рази, настає при застосуванні антралю, глутаргіну, есенціалє, дарсілу та біциклолу. Потужним антифіброзним ефектом володіють біциклол та антраль, дещо меншою мірою – урсохол, есенціалє та глутаргін.

## Практичні рекомендації

1. Для скринінгової неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки у дітей з хронічною патологією печінки, а також для проведення моніторингу ефективності проведеної терапії пропонується визначення вмісту  $\alpha$ -фетопротеїну та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну, як важливого показника колагеноутворення.

2. Для прогнозу прогресивності перебігу вірусних гепатитів В і С у перинатально інфікованих дітей необхідно проводити визначення у сироватці крові рівня TGF- $\beta$ 1 та IGF-1. Зростання концентрації TGF- $\beta$ 1 та зниження – IGF-1 можуть слугувати несприятливим прогностичним критерієм, свідчити про первинну хронізацію процесу та швидке формування цирозу печінки. З метою моніторингу клінічного перебігу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей старшого віку рекомендується визначати у сироватці крові TGF- $\beta$ 1 та IGF-1. Тривале збільшення концентрації даного цитокіну понад вікові нормативи є предиктором формування фіброзу печінки та прогресування даної патології у пацієнтів шкільного віку, особливо у підлітків.

3. На основі результатів проведених експериментальних досліджень запропоновано нові патогенетичні підходи до лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку з урахуванням домінуючих клініко-біохімічних синдромів, віку хворої дитини, а також з позиції покращення репаративної регенерації ушкодженого органу, з огляду на те, що усі досліджувані гепатопротектори дозволені Державним фармакологічним центром МОЗ України для застосування у дітей при захворюваннях печінки. Рекомендовано застосовувати гепатопротектори у вікових дозах з тривалістю лікування, зазначених виробниками.

При переважанні у печінці біохімічних ознак мезенхімального запалення, цитолізу та холестазу, для зменшення процесів ПОЛ, альтеративних процесів (дистрофії та некрозу), пригнічення прогресивності перебігу та розвитку фіброзу для застосування у педіатричній практиці з метою патогенетичного

лікування хронічних вірусних гепатитів В та С можна рекомендувати гепатопротектор антраль у вікових дозах (за рекомендацію виробника – дітям від 4 років). У дітей, старших 12 років (дозволено Державним фармакологічним центром МОЗ України), з такими ж показаннями можна рекомендувати препарат біциклол.

У хворих дітей з переважанням синдрому холестазу раціональним буде призначення урсохолу, який показаний дітям без вікових обмежень.

У разі порушеної білоксинтезуючої функції печінки дітям, хворим на хронічні вірусні гепатити, починаючи з 4 років (за рекомендацією виробника), ефективним буде застосування рослинного гепатопротектору дарсіл.

При необхідності стимулювати процеси репаративної регенерації ушкодженої печінки, з метою активації процесів відновлення маси органу, найбільш ефективним буде призначення препаратів тіотриазолін (дозволено дітям з 4-річного віку) та біциклол дітям з 12-річного віку. При потребі тривалого призначення гепатопротекторів слід застосовувати препарати есенціалє (без вікових обмежень за рекомендацією виробника), урсохол, дарсіл, які помірно впливають на клітинний цикл гепатоцитів, помірно посилюють синтетичні та мітотичні процеси в ядрах гепатоцитів, що необхідно для попередження неконтрольованого збільшення маси органу.

Препаратом вибору при активації патогенно індукованого апоптозу може слугувати рослинні гепатопротектори на основі артишоку (препарат «Артишоку екстракт – Здоров'я» у відповідності до рекомендацій виробника, можна застосовувати дітям віком від 6 років), а також гомеопатичний препарат галстена, які застосовуються дітям, починаючи з періоду новонародженості (за рекомендацією виробника).

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Абдумаджидова Ш. У. Особенности изменений субпопуляций лимфоцитов у детей, больных хроническим вирусным гепатитом D и B / Ш. У. Абдумаджидова, Ф. И. Иноятова // Лікарська справа. – 2004. – № 7. – С. 17–20.
2. Активность эластазо-, коллагеназоподобных протеиназ и их ингибиторов в плазме крови при метаболизме коллагена в условиях хронического течения заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е. В. Белобородова, Э. И. Белобородова, О. Е. Акбашева [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 2. – С. 94–100.
3. Анацкая О. В. Полиплоидия в сердце : защита и слабость / О. В. Анацкая, А. Е. Виноградов // Химия и жизнь. – 2008. – № 9. – С. 34–37.
4. Андрейчин М. А. Вплив урсофальку в комбінації з лафероном на субпопуляційний склад лімфоцитів крові та вміст цитокінів у хворих на хронічний гепатит С / М. А. Андрейчин, Е. В. Рябоконт // Інфекційні хвороби. – 2004. – № 4. – С. 26–31.
5. Андрейчин М. А. Інфекційна захворюваність і Україні : ілюзії та реалії // Інфекційні хвороби / М. А. Андрейчин. – 2008. – № 3. – С. 77–84.
6. Андрейчин М. А. Перинатальное инфицирование вирусом гепатита В и С : патоморфологические механизмы и морфофункциональное состояние плаценты / М. А. Андрейчин, Ю. А. Рандюк // Международный медицинский журнал. – 2005. – № 1. – С. 103–106.
7. Андрейчин М. А. Урсодезоксихолева кислота («урсохол») в патогенетичній терапії хронічних захворювань печінки / М. А. Андрейчин, О. В. Рябоконт // Сучасні інфекції. – 2007. – № 1. – С. 30–34.
8. Антенатальная передача гепатита В / Б. А. Герасун, В. Н. Беседин, Г. А. Мартынюк, И. В. Каминская // Гепатология. – 2008. – № 1. – С. 44–52.
9. Апросина З. Г. Патогенез хронического гепатита В / З. Г. Апросина, В. В. Серов // Архив патологии. – 2001. – Т. 63, № 2. – С. 58–62.

10. Аруин Л. И. Апоптоз и патология печени / Л. И. Аруин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1998. – Т. 8, № 2. – С. 6–11.
11. Асратян А. А. Тенденция и анализ эпидемической ситуации по парентеральным вирусным гепатитам В и С в Российской Федерации и отдельных регионах / А. А. Асратян, О. В. Исаева, М. И. Михайлов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 4. – С. 40–45.
12. Бабак О. Я. Достижения и перспективы гастроэнтерологии / О. Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 6 (50). – С. 6–24.
13. Бакширов Ю. В. Экспериментальные и клинические аспекты применения энтеросорбции при хроническом токсическом гепатите / Ю. В. Бакширов, С. М. Тарабукина, Ж. Мутайхан // Бюллетень СО РАМН. – № 2 (124). – 2007. – С. 72–76.
14. Балаян М. С. Энциклопедичний словник – вірусні гепатити / М. С. Балаян, М. І. Михайлов, Б. А. Герасун. – Львів : ЛДМУ, 2000. – С. 584.
15. Баликин В. Ф. Течение вирусных гепатитов у подростков и коррекция синдрома нарушений гемореологических и оксидергических систем / В.Ф. Баликин, Л.Г. Абросимова // Хвороби печінки в клінічній практиці : науково-практична конференція з міжнародною участю : тези доповідей. – Харків, 2009. – С. 41–42.
16. Белозеров Е. С. Вирусный гепатит / Е. С. Белозеров, Е. А. Иоанниди. – М. : АПП «Джангар», 2004. – 160 с.
17. Березенко В. С. Клініко-патогенетичні особливості фіброгенезу печінки при хронічних гепатитах у дітей та шляхи його медикаментозної корекції : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.01.10 «Педіатрія» / В. С. Березенко. – Київ, 2007. – 39 с.
18. Березенко В. С. Особливості перебігу хронічного вірусного гепатиту С у дітей / В. С. Березенко // Перинатология и педиатрия. – 2006. – № 1. – С. 91–94.

19. Біопсія печінки : клінічні та патоморфологічні аспекти / Ю. В. Бісярін, О. М. Гаврилюк, І. О. Кіселик, Ю. І. Чайка // Гепатологія. – 2009. – № 1. – С. 16–27.
20. Бодревич Б. Б. Синдром холестазу в практиці терапевта : диференційна діагностика та сучасні принципи лікування / Б. Б. Бодревич, Я. С. Денисюк, М. Т. Панасюк // Гепатологія. – 2009. – № 1. – С. 4–15.
21. Бондаренко А. Л. Клинико-иммунологический и генетический анализ вирусного гепатита В / А. Л. Бондаренко // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1999. – № 1. – С. 42–46.
22. Бродский В. Я. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка / В. Я. Бродский, И. В. Урываева / – М. : Наука, 1981. – 259 с.
23. Бударина Н. А. Цитокиновый профиль при остром вирусном гепатите у детей / Н. А. Бударина // Педиатрия. – 2004. – № 6. – С. 22–25.
24. Бурневич Э. З. Неинвазивные серологические маркеры фиброза печени / Э. З. Бурневич, М. С. Краснова // Гепатологический форум. – 2007. – № 2. – С. 18–22.
25. Взаимосвязь активности гепатита, фиброза печени и иммунного статуса у детей с хроническим вирусным гепатитом В+С / П. Н. Филимонов, Н. И. Гаврилова, В. А. Шкурупуй [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 2. – С. 50–56.
26. Вирусные гепатиты у детей первого года жизни / И. А. Московская, Е. А. Григорьева, Г. Е. Холодняк, И. К. Алешин // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2003. – № 1. – С. 32–34.
27. Вікові особливості сучасної етіоструктури вірусних гепатитів / Л. В. Живиця, В. П. Мірошніченко, Т. Ф. Таронцова [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2002. – № 4. – С. 22–25.
28. Владимиров Ю. В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. В. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.



29. Вовк Л. М. Использование бициклола в лечении хронических вирусных заболеваний печени / Л. М. Вовк, Ю. А. Сухов // Сучасні інфекції. – 2007. – № 4. – С. 72–77.
30. Возианов А. Ф. Цитокины : биологические и противоопухолевые средства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутейко, К. П. Зак. – Киев – 1998. – 317 с.
31. Гаврилова Н. И. Уровень ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови детей с моно- и сочетанными формами хронических вирусных гепатитов / Н. И. Гаврилова // Аллергология и иммунология. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 133.
32. Гаврилюк О. М. Регенерація печінки : провідні механізми та морфологічні прояви / О. М. Гаврилюк // Гепатологія. – 2008. – № 2. – С. 16–23.
33. Гепатит С в Украине : эпидемиологические аспекты проблемы / А. А. Гураль, В. Ф. Мариевский, Т. А. Сергеева, В. Р. Шагинян [и др.] // Сучасні інфекції. – 2008. – № 1. – С. 53–63.
34. Гепатоцеллюлярная карцинома и вирусы гепатита / Т. Н. Лопаткина, Д. Т. Абдурахманов, П. Е. Крель, Т. М. Игнатова // Гепатологический форум. – 2005. – № 1. – С. 20–22.
35. Гоникман Э. И. Пути исцеления : Мир лекарственных растений / Э. И. Гоникман. – М. : Издательский дом МСП, 2000. – 426 с.
36. Горячева Л. Безопасная патогенетическая терапия и качество жизни детей, больных вирусным гепатитом / Л. Горячева, М. Романцов, М. Грудинин // Врач. – 2002. – № 10. – С. 32–35.
37. Горячева Л. Г. Вирусный гепатит у детей и возможности его лечения / Л. Г. Горячева // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных заболеваний. – 2003. – № 1-2. – С. 174–177.
38. Гребенюк Н. В. Дизрегуляторні впливи перинатальних інфекцій на стан клітинного та гуморального імунітету дітей / Н. В. Гребенюк, В. Ф. Мислицький, С. С. Ткачук // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 41.
39. Громашевская Л. Л. Вирусные гепатиты как полиорганная системная патология / Л. Л. Громашевская // Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и их исходы. – К., 2001. – С. 97–101.

40. Громова Е. Г. Динамика содержания TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-4 и IL-2 при гемодиализе у больных с хронической почечной недостаточностью / Е. Г. Громова // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 1. – С. 61–62.
41. Губергриц Н. Б. «Эссенциале форте Н» «Эссенциале Н» в гепатологии и гастроэнтерологии / Н. Б. Губергриц // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – № 5 (43). – С. 79–88.
42. Гудима А. А. Динаміка рівня ендогенної інтоксикації під впливом магнітолазерного випромінювання і ентеросорбції в умовах тетрахлорметанового гепатиту / А. А. Гудима // Вісник наукових досліджень. – 1999. – № 1. – С. 45–46.
43. Гундерманн К.-Й. Современные аспекты применения Эссенциале при лечении острых и хронических заболеваний печени : Препринт докл. в рамках секции «Новости современной гастроэнтерологии» X Национальной школы гастроэнтерологов и гепатологов Украины / К.-Й. Гундерманн, О. Татаренко // Здоров'я України. – 2008. – № 10. – С. 50.
44. Гунякова В. К. Вирусный гепатит В у детей : клинико-эпидемиологические и социальные аспекты / В. К. Гунякова // Российский педиатрический журнал. – 2005. – № 3. – С. 21–25.
45. Гураль А. Л. Сучасний стан проблеми ВГ в Україні // Сімейна медицина / А. Л. Гураль, В. Р. Шагінян, Т. А. Сергєєва. – 2006. – № 1. – С. 14–16.
46. Давыдов В. Г. Количественная оценка гибели гепатоцитов и динамика некоторых биохимических параметров крови и желчи при экспериментальной механической желтухе / В. Г. Давыдов, С. В. Бойчук, Р. Ш. Шаймарданов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2007. – № 1. – С. 25–31.
47. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследований уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20–33.

48. Денисова М. Ф. Опыт применения бициклола в лечении хронических вирусных гепатитов у детей / М. Ф. Денисова, Н. Н. Музыка // Сучасні інфекції. – 2010. – № 1. – С. 118–122.
49. Денисова М. Ф. Научно-практические приоритеты детской гепатологии / М. Ф. Денисова // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 6 (50). – С. 115–119.
50. Денисова М. Ф. Фармакотерапия хронических вирусных гепатитов у детей / М. Ф. Денисова // Современная педиатрия. – 2006. – № 3 (12). – С. 215–217.
51. Дроговоз С. М. Экспериментальное обоснование коррекции лиолином лекарственных поражений печени [Электронный ресурс] / С. М. Дроговоз, Е. В. Журавель // Провизор. – 1998. – № 14. – Режим доступа до журн. : <http://provisor.com.ua/1998/N14/guravel.php>.
52. Дроговоз С. М. Альтернатива выбора гепатопротекторов в условиях токсического гепатита и частичной резекции печени / С. М. Дроговоз, Л. В. Деримедведь // Провизор. – 1998. – № 18. – С. 29–30.
53. Дроговоз С. М. Гепатопротекторы – сегодня и завтра в Украине : Метод. рекомендации / С. М. Дроговоз. – К., 2003. – 12 с.
54. Дроговоз С. М. Преимущества силибинина в терапии заболеваний печени / С. М. Дроговоз, Е. Г. Щекина // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – № 2. – С. 49–52.
55. Дудник В. М. Порухення ліпідного обміну в дітей при хронічному вірусному гепатиті С : зв'язок з генотипом вірусу та величиною вірусного навантаження / В. М. Дудник, Л. В. Мороз, Я. А. Медражевська // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – № 6 (44). – С. 42–45.
56. Дудник Л. Б. Антиоксидантное и антиапоптотическое действие билирубина при патологии печени и желчевыводящих путей : автореф. дис. на соискание науч. степени докт. биол. наук / Л. Б. Дудник. – М., 2004. – 44 с.

57. Дьяченко А. А. Пролиферативная активность лимфоцитов и цитокиновый профиль при хронических гепатитах / А. А. Дьяченко // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, № 2. – С. 108.
58. Епідеміологічна характеристика гепатиту В в Україні і шляхи підвищення ефективності його профілактики / А. Л. Гураль, В. Ф. Марієвський, Т. А. Сергєєва [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2003. – № 2. – С. 35–42.
59. Ерамишанцев А. К. Портальная гипертензия и желудочно-кишечные кровотечения / А. К. Ерамишанцев, Г. В. Манукьян // Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей : Под. ред. : В. Т. Ивашкина, 2-е изд. – М. : М–Вести, 2005. – С. 234–251.
60. Зависимость эффективности интерферонотерапии от генотипа вируса при хроническом гепатите В у детей с соматической патологией / В. Ф. Учайкин, А. В. Смирнов, А. Л. Россина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2003. – № 5. – С. 29–32.
61. Захворювання підлітків / Л. К. Пархоменко, З. Т. Балацька, Т. О. Глібова [та ін.] // Обсяг профілактичної, діагностичної та лікувальної роботи лікаря загальної практики – сімейного лікаря. – Харків, 2005. – С. 138–151.
62. Земсков А. М. Клиническая иммунология / А. М. Земсков, В. М. Земсков, А. В. Караулов. – М., 1999. – 603 с.
63. Зимин Ю. В. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите / Ю. В. Зимин, С. П. Сяткин, Т. Т. Березов // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 346–352.
64. Ивашкин В. Г. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени / В. Г. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1998. – Т. 8, № 5. – С. 13–17.
65. Ивашкин В. Т. Антифибротическая терапия : настоящее и будущее / В. Т. Ивашкин // Гепатология сегодня. Фиброз печени : IX Рос. конф. : тезисы докладов. – М., 2004. – С. 17–22.

66. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей : Руководство для врачей / В. Т. Ивашкин. – М. : М-Вести, 2002. – 416 с.
67. Ивашкин В. Т. Иммунный гомеостаз и иммунные заболевания печени / В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2009. – № 3. – С. 4–12.
68. Ивашкин В. Т. Механизмы иммунного «ускользания» при вирусных гепатитах / В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2000. – Т. X, № 5. – С. 7–11.
69. Ивкова А. Н. Роль цитокинов в развитии фиброза печени / А. Н. Ивкова, И. Г. Федоров, Г. И. Сторожаков // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2006. – № 1. – С. 2–9.
70. Игнатов В. А. Профиброгенные цитокины и их связь с маркерами фиброза у больных хроническим гепатитом / В. А. Игнатов // Сучасна гастроентерологія. – 2001. – № 3. – С. 59–61.
71. Игнатова Т. И. Хронический вирусный гепатит и беременность / Т. И. Игнатова // Врач. – 2002. – № 8. – С. 10–12.
72. Игнатова Т. М. Факторы прогрессирования хронического гепатита С / Т. М. Игнатова, С. М. Абдуллаев, М. В. Северов // Гепатологический форум. – 2005. – № 1. – С. 11–16.
73. Ильянкова А. А. Клинико-морфологическая характеристика внепеченочных проявлений HBV-инфекции / А. А. Ильянкова, П. Е. Крель // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 3. – С. 11–18.
74. Ильянкова А. А. Роль вирусной нагрузки в течении хронического вирусного гепатита В : новый критерий прогноза и эффективности лечения / А. А. Ильянкова, И. О. Иваников // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. Русское издание. – 2009. – Т. 2, № 1. – С. 41–44.
75. Иммунорегуляторные цитокины и хронизация вирусного гепатита С : клинико-иммунологические параллели / И. О. Наследникова,

- Е. В. Белобородова, Н. В. Рязанцева [и др.] // Клиническая медицина. – 2005. – № 9. – С. 40–44.
76. Иноятова Ф. И. Виферон и урсосан в терапии хронического вирусного микст гепатита В и С у детей / Ф. И. Иноятова, Г. З. Иногамова, Н. К. Валиева // Детские инфекции. – 2007. – № 1. – С. 69–74.
77. Ипатова Д. П. Опыт применения препарата «бициклол» у больных с хроническим вирусным гепатитом и циррозом печени / Д. П. Ипатова // Сучасні інфекції. – 2008. – № 1. – С. 94–96.
78. Исследование полиплоидизации гепатоцитов при некоторых хронических заболеваниях печени у человека / Б. Н. Кудрявцев, М. В. Кудрявцева, Г. А. Сакута [и др.] // Цитология. – 1993. – № 35 (1). – С. 70–83.
79. Калиаскарова К. С. Эффективность препарата «Урсофальк» в высоких дозах при вирусных гепатитах / К. С. Калиаскарова, С. К. Туганбекова, А. В. Нерсесов // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2 (46). – С. 50–52.
80. Капітан Т. В. Пропедевтика дитячих хвороб з доглядом за дітьми / Т. В. Капітан // Підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів. – Вінниця : ДП ДКФ, 2006. – 792 с.
81. Кашуба Э. А. Вторичные иммунодефицитные состояния / Э. А. Кашуба, В. В. Фомин. – Екатеринбург, 1997. – 354 с.
82. Кетлинский С. А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С. А. Кетлинский // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 2. – С. 77–79.
83. Коваленко В. Н. Компендиум 2006 – лекарственные препараты / В. Н. Коваленко, А. П. Викторов. – К. : Морион, 2006. – 2270 с.
84. Комарова Д. В. Морфологическая диагностика инфекционных заболеваний печени. Практическое руководство / Д. В. Комарова, В. А. Цинзерлинг. – С.-Петербург : «Сотис», 1999. – 243 с.
85. Комплексная оценка эффективности Эссенциале Н при хронических гепатитах и циррозах печени по результатам динамической межфазной

- тензиометрии крови / Н. Б. Губергриц, Е. Ю. Череватская, Е. В. Иванова [и др.] // Украинський медичний часопис. – 2000. – № 1. – С. 21–24.
86. Конакова О. В. Эффективность застосування тіотриазоліну для лікування дітей, хворих на гострі вірусні гепатити А та В / О. В. Конакова // Запорозький медичний журнал. – 2010. – Т. 12, №5. – С. 37–39.
87. Корочкина О. В. Показатели цитокиновой регуляции иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С / О. В. Корочкина, Д. М. Собчак, Е. А. Михайлова // Клиническая медицина. – 2003. – № 9. – С. 49–53.
88. Коррекция дисбиоза кишечника в комплексном лечении гепатитов у детей / И. Б. Ершова, И. В. Коваленко, Л. В. Дворянкина [и др.] // Современная педиатрия. – 2006. – № 2 (11). – С. 57–60.
89. Косых А. А. Гидроксипролиновый показатель крови как критерий активности хронических заболеваний печени у детей / А. А. Косых // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 6. – С. 67–69.
90. Котілов О. В. Поширеність алкоголізму, наркоманії та тютюнопаління серед підлітків притягнутих до кримінальної відповідальності / О. В. Котілов // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2004. – № 3. – С. 13–15.
91. Крамарев С. А. Вирусные гепатиты у детей / С. А. Крамарев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2005. – № 1. – С. 17–20.
92. Крамарев С. А. Современные возможности лечения хронических вирусных гепатитов у детей / С. А. Крамарев, И. В. Шпак, Л. А. Большакова // Здоровье ребенка. – 2007 – № 4 (7). – С. 7–8.
93. Красавцев Е. Л. Уровень некоторых цитокинов и антител к вирусу гепатита С у больных хроническим гепатитом С / Е. Л. Красавцев, В. М. Мицура, С. В. Жаворонок // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 5. – С. 103–105.
94. Крель П. Е. Гепатоцеллюлярная карцинома. Практическая гепатология / П. Е. Крель // Под ред. : Н. А. Мухина. – М. : Бином, 2004. – С. 159–161.

95. Крючко Т. О. Застосування індуктора ендogenous інтерферону в протоколах лікування дітей з хронічним гепатитом В / Т. О. Крючко, І. М. Несіна // Современная педиатрия. – 2006. – № 2 (11). – С. 102–105.
96. Крючко Т. О. Зміни концентрації інтерферонів  $\alpha$  та  $\gamma$  у дітей з хронічним гепатитом залежно від фази патологічного процесу / Т. О. Крючко, І. М. Несіна // Перинатология и педиатрия. – 2005. – № 1/2. – С. 86–88.
97. Крючко Т. О. Клініко-лабораторні аспекти діагностики хронічного гепатиту у дітей в залежності від фази та ступеня активності патологічного процесу / Т. О. Крючко, І. М. Несіна // Перинатология и педиатрия. – 2006. – № 1. – С. 95–99.
98. Кудряшов А. А. Подросток – зона риска : знать чтобы выжить / А. А. Кудряшов // Твое здоровье. Издательство «Знание». – 2004. – № 4. – С. 44–47.
99. Кузнецов Н. И. Вирусный гепатит С / Н. И. Кузнецов // Российский семейный врач. – 2004. – Т. 8, № 3. – С. 4–8.
100. Курамшин Д. Х. Показатели эффекторного звена иммунитета и содержание цитокинов в сыворотке при вирусном гепатите С и сочетанной форме инфекции С+В / Д. Х. Курамшин // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, № 2. – С. 107.
101. Кухарчук А. Л. Регенеративная медицина : направления, достижения, проблемы и перспективы развития. Часть 1 : принципы и методы / А. Л. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман // Український медичний часопис. – 2004. – № 2 (40). – С. 70–77.
102. Лебедев К. А. Иммунная недостаточность (выявление и лечение) / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина. – М. : Медицинская книга, Н. Новгород : Издательство НГМА, 2003. – 443 с.
103. Лобзин Ю. В. Вирусные гепатиты / Ю. В. Лобзин, К. В. Жданов, В. М. Волжанин. – С.-Петербург: Фолиант, 1999. – 104 с.



104. Логинов А. С. Клеточные мембраны и их повреждение при заболеваниях печени / А. С. Логинов, В. И. Решетняк // Российский гастроэнтерологический журнал. – 1999. – № 2. – С. 5–12.
105. Лук'янова О. М. Гепатопротекція та гепатопротектори у педіатрії / О. М. Лук'янова, В. П. Родіонов // Перинатология и педиатрия. – 2007. – № 2 (30). – С. 115–118.
106. Лук'янова О. М. Роль клітинної смерті у прогресуванні хронічних вірусних гепатитів у дітей / О. М. Лук'янова, Т. Д. Задорожна, В. С. Березенко // Журнал АМН України. – 2009. – Т. 15, № 4. – С. 670–684.
107. Лук'янова О. М. Медикаментозна корекція склерогенезу як профілактика цирозу печінки у дітей з хронічними вірусними гепатитами / О. М. Лук'янова, В. С. Березенко, А. Г. Ципкун // Педиатрия, акушерство та гінекологія. – 2006. – № 4. – С. 5–10.
108. Лук'янова О. М. Морфологічні, ультраструктурні та імуногістохімічні особливості апонекрозу в гепатоцитах при хронічних вірусних гепатитах у дітей / О. М. Лук'янова, В. С. Березенко, Т. Д. Задорожна // Перинатология и педиатрия. – 2006. – № 2. – С. 59–63.
109. Лукьянова Е. М. Сравнительная морфологическая характеристика биоптатов печени у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С / Е. М. Лукьянова, Т. Д. Задорожная // Доктор. – 2002. – № 3. – С. 75–77.
110. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита / К. П. Майер. – М. : Гэотар-Медицина, 2004. – 720 с.
111. Малий В. П. Динаміка цитокінового профілю у пацієнтів з гострим і хронічним гепатитом В залежно від встановленого генотипу НВV / В. П. Малий, М. А. Тимкович // Інфекційні хвороби – 2006. – № 4. – С. 34–37.
112. Малий В. П. Стан цитокінові регуляції у хворих на хронічний гепатит С / В. П. Малий, О. В. Гололобова // Сучасні інфекції. – 2007. – № 2. – С. 13–17.

113. Малый В. П. Влияние генотипов HBV на динамику регуляторных цитокинов у больных острым вирусным гепатитом В / В. П. Малый, Т. И. Лядова, В. П. Чуланов // Гепатология. – 2008. – № 1. – С. 73–81.
114. Малый В. П. HCV-инфекция (острая и хроническая) / В. П. Малый, Т. Д. Звягинцева, С. П. Титовский. – К., 2005. – 291 с.
115. Мансуров И. Д. Экспериментальная патология печени / И. Д. Мансурова. – Душанбе : «Дониш», 1976. – 215 с.
116. Марієвський В. Ф. Корекція тромбоцитопенії під час лікування хронічної HCV-інфекції / В. Ф. Марієвський, С. В. Федорченко, Ж. О. Карюк // Сучасні інфекції. – 2008. – № 1. – С. 97–101.
117. Маркеры вирусного гепатита С в ткани печени, сыворотке и мононуклеарных клетках периферической крови больных хроническим гепатитом С и внепеченочные проявления хронической HCV-инфекции / Н. В. Бушуева, П. Е. Крель, Е. И. Исаева [и др.] // Терапевтический архив. – 2005. – № 2. – С. 65–69.
118. Мороз В. М. Експериментальне обґрунтування патогенетичної терапії хронічної патології печінки / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2010. – № 16 (2). – С. 236–241.
119. Мороз В. М. Роль трансформуючого фактору росту- $\beta$  та інсуліноподібного фактору росту-1 у патогенезі хронічних вірусних гепатитів у дітей різного віку / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2010. – № 16 (3). – С. 640–644.
120. Мороз В. М. Вплив гепатопротекторів на рівень фрагментації ДНК гепатоцитів при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвячена 90-річчю професора О. О. Столярчука : тези доп. – Вінниця : ВНМУ, 2010. – С. 297–300.

121. Мороз В. М. Поліплоїдія гепатоцитів у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, медикаментозна корекція / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – № 1. – С. 61–72.
122. Мороз В. М. Вплив гепатопротекторів на клітинні механізми репаративної регенерації тканини печінки при хронічному токсичному гепатиті та цирозі у статевонезрілих щурів / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Журнал АМН України. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 701–712.
123. Мороз В. М. Вікові особливості цитокінового профілю у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 2 (9). – С. 137–138.
124. Мороз Л. В. Вивчення впливу детоксиканту «Ентеросгель» на клінічні та лабораторні показники при хронічних вірусних гепатитах / Л. В. Мороз, І. Г. Палій // Сучасні інфекції. – 2008. – № 2. – С. 96–100.
125. Мороз Л. В. Особливості морфологічних змін печінкової тканини у хворих на хронічний гепатит С залежно від носійства окремих генетичних маркерів крові / Л. В. Мороз, О. О. Попович // Гепатологія. – 2008. – № 1. – С. 82–87.
126. Мороз Л. В. Хронічні вірусні гепатити В та С. Поширеність, клініко-морфологічні паралелі : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : 14.01.13 «Інфекційні хвороби» / Л. В. Мороз. – К., 2002. – 38 с.
127. Мушкамбаров Н. Н. Молекулярная биология : учебное пособие для студентов мед.вузов / Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. – М. : «МИА», 2007. – 536 с.
128. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – Москва : «Медицина», 2006. – 541 с.
129. Наказ МОЗ України «Про затвердження Протоколів лікування дітей за спеціальністю «Дитяча гастроентерологія» (№ 471 від 10 вересня 2007 року) // Ліки України. – 2008. – № 6 (122). – С. 24–27.

130. Незгода І. І. Вірусні гепатити у дітей – актуальна проблема сучасної медицини (огляд літератури) / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Современная педиатрия. – 2008. – № 2 (19). – С. 171–173.
131. Незгода І. І. Діагностичні критерії виявлення хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2008 – № 60.
132. Незгода І. І. Діагностичні критерії виявлення хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Перинатологія та педіатрія. – 2008. – № 1 (33). – С. 107–110.
133. Незгода І. І. Захворюваність на вірусні гепатити у дітей Вінниччини / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Ліки України. – 2008. – № 8 (124). – С. 62–65.
134. Незгода І. І. Клініко-патогенетичний аналіз летального випадку гепатиту В у дитини / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Інфекційні хвороби у клінічній та епідеміологічній практиці : науково-практична конференція і пленум Асоціації інфекціоністів України, м. Львів, 21-22 травня 2009 р.: – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2009. – С. 29–31.
135. Незгода І. І. Парентеральні вірусні гепатити у дітей : погляд на проблему / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Мистецтво лікування. – 2009. – № 1. – С. 38–40.
136. Незгода І. І. Рівень інфікованості HBV та HCV у дітей гастроентерологічних стаціонарів м. Вінниці / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Ліки України. – 2009. – № 8 (134). – С. 83–85.
137. Незгода І. І. Характеристика клінічних і параклінічних показників при хронічних вірусних гепатитах у дітей / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Хвороби печінки в клінічній практиці : науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 26-27 березня, 2009р. : – Харків, 2009. – С. 125–126.

138. Непомнящих Д. Л. Биопсия печени : патоморфогенез хронического гепатита и цирроза / Д. Л. Непомнящих, С. В. Айдагулова, Г. И. Непомнящих. – М. : Издательство РАМН, 2006. – 368 с.
139. Никитин И. Г. Гепатопротекторы : мифы и реальные возможности / И. Г. Никитин // Фарматека. – 2007. – № 13. – С. 14–18.
140. Нікітін Є. В. Вміст ІЛ-8, стан антиоксидантної системи та їх зв'язок з процесами фіброзоутворення у хворих на хронічний гепатит С / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан // Гепатологія. – 2008. – № 2. – С. 48–53.
141. Нікітін Є. В. Порушення в тромбоцитарній ланці гемостазу у хворих на гострий гепатит В / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан, В. А. Гудзь // Гепатологія. – 2008. – № 1. – С. 88–94.
142. Нікітін Є. В. Роль цитокінів у патогенезі інфекційних захворювань / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан, С. К. Сервецький // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 1. – С. 51–57.
143. Нейко Є. М. Діагностичне значення цитокінового профілю крові при хронічних гепатитах : Метод. рекомендації / Є. М. Нейко. – Івано-Франківськ, 2003. – 22 с.
144. Обґрунтування доцільного вибору вітчизняного гепатопротектора / Т. В. Бородіна, Я. О. Бутко, З. П. Омеляненко, Т. М. Чернова // Вісник фармації. – 2004. – № 4. – С. 68-71.
145. Отдаленные исходы хронического гепатита С у детей : от элиминации вируса до терминальной стадии поражения печени [Електронний ресурс] / F. Bortolotti, G. Verucchi, S. Camma, G. Cabibo [et al.] // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. – 2009. – № 3. – Режим доступа до журн. : [http://elsevier.ru/gastro/2009\\_3/id=1747](http://elsevier.ru/gastro/2009_3/id=1747).
146. Отдаленные результаты интерферонотерапии у детей с хроническим гепатитом С / В. Ф. Учайкин, Т. В. Чередниченко, Г. В. Чаплыгина [и др.] // Детские инфекции. – 2008. – № 1. – С. 9–14.

147. Отдаленные результаты интерферонотерапии у детей с хроническим гепатитом В / В. Ф. Учайкин, Т. В. Чередниченко, Г. В. Чаплыгина [и др.] // Детские инфекции. – 2007. – № 4. – С. 17–21.
148. Особенности течения хронического вирусного гепатита В у детей различного возраста / Ф. И. Иноятова, Б. А. Кадыров, Ш. У. Абдумаджитова [и др.] // Лікарська справа. – 2002. – № 2. – С. 68–72.
149. Отчет о безвредности и специфической активности препарата антраль (таблетки, покрытые оболочкой) / Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины. – Киев, 2001. – 56 с.
150. Оценка эффективности комплексной терапии детей, больных хроническим вирусным гепатитом В / Н. В. Чернега, М. Ф. Денисова, Ю. В. Кудрей, Т. А. Даниленко // Современная педиатрия. – 2009. – № 6 (28). – С. 79–82.
151. Павлов Ч. С. Диагностика фиброза печени: современное состояние проблемы / Ч. С. Павлов, В. Б. Золотаревский // Симпозиум «Фиброз печени». – М. : Бином, 2004. – С. 11–16.
152. Павлов Ч. С. Принципы диагностики и подходы к терапии фиброза и цирроза печени / Ч. С. Павлов // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 9, № 1 (прилож. «Болезни органов пищеварения»). – С. 11–15.
153. Пальцев М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – М. : Медицина, 1995. – 223 с.
154. Пархоменко Л. К. Медико-социальные проблемы состояния здоровья подростков в Украине / Л. К. Пархоменко // Организация здравоохранения. – 2006. – № 1. – С. 31–35.
155. Пат. 43704 України, МПК (2009) G09B 23/00. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало, І. І. Незгода, В. А. Рауцкіс ; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u2009 03490 ; заявл. 10.04.2009 ; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16.
156. Пат. 53526 України, МПК (2009) G01N 33/53. Спосіб неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки / В. М. Мороз, Н. А. Рикало ;

- власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u201004025 ; заявл. 06.04.2009 ; опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19.
157. Пирогова И. Ю. Регенерационная терапия хронических гепатитов и циррозов печени с помощью трансплантации фетальных тканей / И. Ю. Пирогова, С. А. Пышкин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 57–61.
158. Подымова С. Д. Болезни печени. – 4-е изд. – М. : Медицина, 2005. – 768 с.
159. Показатели системы протеолиза и метаболизма коллагена при хроническом течении заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е. В. Белобородова, Э. И. Белобородова, О. Е. Акбашева [и др.] // Терапевтический архив. – 2010. – № 2. – С. 29.
160. Попова В. В. Хемокины при сахарном диабете 1-го типа у человека (обзор литературы и собственные данные) / В. В. Попова, К. П. Зак // Український медичний часопис. – 2008. – Т. XI-XII, № 6 (68). – С. 69–78.
161. Предрасположенность к заболеваниям щитовидной железы у больных гепатитом С / F. V. Bianchi, D. P. Bogdanos, A. Granito [et al.] // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. 2008. – № 5. – С. 352–360.
162. Препараты растительного происхождения в лечении гепатита С / В. Т. Ивашкин, М. А. Морозова, М. В. Маевская, Е. А. Федосына // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2009. – № 3. – С. 70–75.
163. Проблеми епідеміології та профілактики гепатиту С в Україні / А. Л. Гураль, В. Ф. Марієвський, Т. А. Сергеева [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 3. – С. 23–31.
164. Продукция цитокинов клетками крови при герпесе, гепатите С и других формах патологии / М. В. Мезенцева, А. Н. Наровлянский, Т. П. Оспельникова, Ф. И. Ершов // Вопросы вирусологии. – 2002. – Т. 47, № 1. – С. 44–47.

165. Резников А. Г. Аминоацил-тРНК-синтетазы: новая перспектива иммуномодуляции, регенерации и противоопухолевой терапии / А. Г. Резников, А. И. Корнелюк // Вісник фармакол. Фармації. – 2008, № 9. – С. 2–8.
166. Резников О. Г. Зміни проліферації й апоптозу в передміхуровій залозі щурів під впливом блокатора андрогенних рецепторів флутаміду й індукторів інтерферону / О. Г. Резников, Л. І. Полякова, Л. В. Чайковська // Патологія, 2010, Т. 7, № 2. – С. 63–68.
167. Рейзис А. Р. Апоптоз и антиапоптотическая терапия при хронических гепатитах В и С / А. Р. Рейзис, Н. В. Матанина, Д. А. Шмаров // Детские инфекции. – 2006. – № 4. – С. 11–14.
168. Рейзис А. Р. Гепатит С у детей и подростков / А. Р. Рейзис // Лечащий врач. – 2003. – № 3. – С. 66–69.
169. Рейзис А. Р. Современные проблемы вирусного гепатита С у детей и подростков / А. Р. Рейзис // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2003. – № 5. – С. 23–26.
170. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників при хронічних вірусних гепатитах у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Ліки України. – 2009. – № 6. – С. 22–25.
171. Рикало Н. А. Патоморфологічні зміни в печінці при вірусному гепатиті у дітей першого року життя / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 3 (47). – С. 10–15.
172. Рикало Н. А. Дезінтоксикаційна та метаболічна терапія при вірусних гепатитах у дітей / Н. А. Рикало // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1-2 (22). – С. 53–55.
173. Рикало Н. А. Експериментальна модель хронічного тетрахлорметанового гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 116–118.



174. Рикало Н. А. Імунологічні порушення при хронічному вірусному гепатиті В і С у дітей (огляд літератури) // Современная педиатрия. – 2009. – № 1 (23). – С. 164–168.
175. Рикало Н. А. Клініко-патогенетична характеристика летальних випадків вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Медицина сьогодні і завтра. – 2008. – № 2. – С. 105–108.
176. Рикало Н. А. Морфологічна картина HBV-інфекції в дітей / Н. А. Рикало // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 126–130.
177. Рикало Н. А. Морфологічні зміни органів і тканин дітей, померлих від вірусних гепатитів та цирозу печінки / Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2008. – № 14 (2). – С. 313–316.
178. Рикало Н. А. Патогенетичні принципи інфузійної терапії при патології печінки у дітей : історія і перспективи / Н. А. Рикало // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1-2 (22). – С.50–52.
179. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика імунного статусу та морфологічних особливостей при хронічних вірусних гепатитах у підлітків / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 315–323.
180. Рикало Н. А. Оптимізація антиоксидантної терапії хронічної патології печінки в експерименті / Н. А. Рикало, О. І. Штатко, А. В. Мельник // IX читання ім. В. В. Підвисоцького : матеріали наукової конференції, м. Одеса, 27-28 травня 2010 р. : – Одеса: ОНМУ, 2010. – С. 66–67.
181. Рикало Н. А. Патогенетичне обґрунтування вибору гепатопротекторів для педіатричної практики в умовах експерименту / Н. А. Рикало // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 2. – С. 69–73.
182. Рикало Н. А. Медикаментозний патоморфоз експериментального хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – № 2 (додаток). – С. \_\_\_\_\_

183. Рикало Н. А. Механізми хронізації та прогресивності вірусних гепатитів В і С у дітей : вікові аспекти / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – №3 (додаток). – С. \_\_\_\_\_
184. Рикало Н. А. Морфологічні особливості фетальних вірусних гепатитів з фульмінантним перебігом / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // VIII з'їзд інфекціоністів : матеріали наукової конференції, м. Вінниця, 6-8 жовтня 2010 р. : – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2010. – С. 93–94.
185. Рикало Н. А. Раціоналізація патогенетичних підходів до лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало // XIV університетська науково-практична конференція молодих вчених та фахівців : матеріали конференції, м. Вінниця, 15-16 травня 2008 р. : – Вінниця : ВНМУ, 2008. – С. 110–112.
186. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика біохімічних показників крові при летальних випадках вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Науково-практична конференція, присвячена 90-річчю з дня народження професора С. Ф. Олійника та пам'яті професора М. В. Панчишин : матеріали наукової конференції, м. Львів, 2-3 жовтня 2008 р. : – Львів : Ліга-Прес, 2008. – С. 33–34.
187. Рикало Н. А. Особливості патогенезу та патоморфології вірусного гепатиту В на тлі акцидентальної інволюції тимуса у дитини першого року життя / Н. А. Рикало // Современная педиатрия. – 2009. – № 5 (27). – С. 22–25.
188. Рикало Н. А. Патогенетичне лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 5 (49). – С. 60–63.
189. Рикало Н. А. Фетальні гепатити : етіологія, патогенез та функціональна морфологія / Н. А. Рикало // Ліки України. – 2009. – № 9 (135). – С. 104–106.
190. Рикало Н. А. Фрагментація ядерної ДНК гепатоцитів при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів : патогенетична корекція / Н. А. Рикало // Медицина сьогодні і завтра. – 2010. – № 4. – С. \_\_\_\_\_

191. Родіонов В. П. Клініко-імунологічна характеристика препарату Антраль в комплексному лікуванні хронічних гепатитів та цирозу печінки у дітей / М. Ф. Денисова, І. К. Галана // Ліки. – 1994. – № 1. – С. 40–43.
192. Родионов В. П. Сочетанное применение препаратов амизон и антраль в лечении хронического вирусного гепатита у детей / В. П. Родионов, А. В. Пьянкова, Н. Е. Зайцева // Перинатологія та педіатрія. – 2001. – № 1. – С. 76–77.
193. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл : пер. с англ. – М. : Мир, 2000. – 592 с.
194. Цитокиновый профиль при остром вирусном гепатите В у детей / Е. В. Волчкова, К. П. Умбетова, М. Н. Алленов [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии – 2001. – Приложение № 12. – Т. 11, № 1. – С. 7.
195. Рябоконт О. В. Вміст у сироватці крові цитокінів ТХ 1 та ТХ 2 типів у хворих на хронічний гепатит С залежно від реплікативної активності вірусу / О. В. Рябоконт, Ю. М. Колесник // Лабораторна діагностика. – 2002. – № 4. – С. 11–12.
196. Рябоконт О. В. Досвід застосування препарату урсолізін в патогенетичній терапії вірусних гепатитів / Рябоконт О. В. // Гепатологія. – 2008. – № 2. – С. 65–68.
197. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады Академии Наук СССР. – Т. 247. – С.1513–1516.
198. Рыкало Н. А. Функционирование системы цитокинов при вирусных гепатитах у детей / Н. А. Рыкало // Международный медицинский журнал. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 83–87.
199. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О. В. Стефанов. – К. : МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – 527 с.

200. Сравнительный анализ морфофункциональных показателей культуры гепатоцитов, выделенных из нормальной и патологически измененной печени крыс / Е. В. Байдюк, А. П. Ширяева, Н. Н. Безбородкина [и др.] // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 10. – С. 797–805.
201. Сакута Г. А. Клеточные механизмы регенерации циррозной печени крыс. I. Соотношение процессов пролиферации, полиплоидизации и гипертрофии клеток после прекращения хронического воздействия  $CCl_4$  / Г. А. Сакута, Б. Н. Кудрявцев // Цитология. – 1996. – № 38 (11). – С. 1158–1171.
202. Сакута Г. А. Клеточные механизмы регенерации циррозной печени крыс. II. Влияние частичной гепатэктомии на пролиферацию, полиплоидизацию и гипертрофию гепатоцитов / Г. А. Сакута, Б. Н. Кудрявцев // Цитология. – 2005. – № 47 (5). – С. 379–387.
203. Сепиашвили Р. И. Основы физиологии иммунной системы / Р. И. Сепиашвили. – М. : Медицина, 2003. – 240 с.
204. Сепиашвили Р. И. Функциональная система иммунного гомеостаза / Р. И. Сепиашвили // Алергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 5–14.
205. Серов В. В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В. В. Серов, К. Лапиш. – М. : Медицина, 1989. – 336 с.
206. Симбирцев А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–17.
207. Сироватковий рівень інтерферону і фактору некрозу пухлин у хворих, хронічно інфікованих вірусами гепатиту В та С / П. А. Дьяченко, Ю. Й. Кудрявец, А. Г. Дьяченко [та ін.] // Сучасні інфекції. – 2005. – № 1. – С. 24–29.
208. Скляр Л. Ф. Цитокиновый профиль при хроническом гепатите С / Л. Ф. Скляр, Н. Д. Никифоров, Е. В. Маркелова // Клиническая медицина. – 2005. – № 10. – С. 40–44.

209. Скляр Л. Ф. Цитокиноterapia рекомбинантным интерлейкином 2 (Ронколейкином) у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л. Ф. Скляр, Е. В. Маркелова // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 4. – С. 43–46.
210. Собчак Д. М. Показатели иммунитета у больных хроническим гепатитом С при различной гистологической активности / Д. М. Собчак, Э. А. Монакова // Клиническая медицина. – 2004. – № 4. – С. 49–52.
211. Современные представления о хронической HBV-инфекции / В. В. Горбаков, Х. И. Абдуллаева, А. Л. Раков [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 2. – С. 54–63.
212. Соотношение результатов FIBROspect II с гистологической и морфометрической оценкой фиброза печени при хроническом гепатите С // K. Patel, D. R. Nelson, D. C. Rockey [et al.] // Clinical Gastroenterology and Hepatology. Русское издание. – 2009. – Т. 2, № 4–5. – С. 214–220.
213. Соринсон С. Н. Вирусные гепатиты / С. Н. Соринсон. – С.-Петербург. : Теза, 1998. – 335 с.
214. Состояние здоровья подростков Украины / Н. М. Коренев, О. А. Немирова, Л. П. Булага [и др.] // Проблеми медичної науки та освіти. – 2005. – № 4. – С. 5–7.
215. Спектр, частота и прогностическая значимость системных проявлений при хроническом гепатите с низкой активностью / С. Ю. Карпов, П. Е. Крель, Т. Н. Лопаткина, Т. Н. Краснова [и др.] // Терапевтический архив. – 2005. – № 2. – С. 59–65.
216. Справочник ВИДАЛЬ. Лекарственные препараты в России. – М. : АстраФармСервис, 2007. – 1632 с.
217. Сравнительная морфология хронического сочетанного вирусного гепатита В+С и моногепатитов В и С у детей / П. Н. Филимонов, Н. И. Гаврилова, Е. А. Ольховикова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 2. – С. 54–61.

218. Сравнительный анализ морфофункциональных показателей культуры гепатоцитов, выделенных из нормальной и патологически измененной печени крыс / Е. В. Байдюк, А. П. Ширяева, Н. Н. Безбородкина [и др.] // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 10. – С. 797–805.
219. Сравнительный анализ ультразвукового и морфологического исследований печени при хронических гепатитах у детей / Г. М. Дворяковская, С. М. Якушенко, И. В. Дворяковский [и др.] // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2005. – №1. – С. 39–47.
220. Стефани Д. В. Иммунология и иммунопатология детского возраста / Д. В. Стефани. – М. : Медицина, 1996. – 380 с.
221. Сухих Г. Т. Трансплантация эмбриональных гепатоцитов : экспериментальное обоснование нового подхода к лечению недостаточности печени // Бюл. Экспериментальной биологии и медицины / Г. Т. Сухих, А. А. Штиль. – 2002. – Т. 134, № 12. – С. 604–610.
222. Сухов Ю. А. Состояние иммунной системы у больных хроническим вирусным гепатитом С после курса лечения бициклолом / Ю. А. Сухов, В. И. Пивень // Сучасні інфекції. – 2008. – № 4. – С. 116–120.
223. Сюткин В. Е. Современные представления о фиброзе печени / В. Е. Сюткин // Гепатологический форум. – 2007. – № 2. – С. 3–7.
224. Тимкович М. А. Генетична варіабельність та імунне реагування організму при HBV-інфекції / М. А. Тимкович, В. П. Малий // Гепатологія. – 2008. – № 1. – С. 66–72.
225. Титры специфических антител в разные фазы гепатита С / Л. И. Николаева, М. И. Михайлов, Н. П. Блохина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 5. – С. 37–42.
226. Торхова Т. Антраль – эффективный гепатопротекторный способ для лечения хронического гепатита и цирроза печени [Электронный ресурс] / Т. Торхова // Здоровье Украины. – 2003. – № 66. – Режим доступа до журн. : <http://www.health-ua.org/article/health/96.html>.

227. Туйчиев Л. Н. Применение интерферона альфа-2в в терапии хронического гепатита В, ассоциированного с различными генотипами НВ-вируса / Л. Н. Туйчиев // Детские инфекции. – 2007. – № 4. – С. 41–44.
228. Туманский В. А. Патогенно индуцированный апоптоз гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите : молекулярные механизмы и микроскопическая диагностика / В. А. Туманский, Ю. А. Шебеко // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 29–33.
229. Туманский В. А. Физиологическое обновление и репаративная регенерация специализированных клеток / В. А. Туманский // Патологія. – 2006. – Т. 3, № 2. – С. 19–31.
230. Тяжелый фиброз печени : особенности морфогенеза, биопсийной диагностики и клинических проявлений / В. А. Туманский, М. А. Шишкин, Ю. А. Шебеко [и др.] // Світ медицини та біології. – 2008. – № 2. – С. 102–104.
231. Умаров Т. У. Эффективность влияния фармакотерапии на лейкоциты при вирусном гепатите В у детей раннего возраста / Т. У. Умаров // Проблемы гематологии. – 2005. – № 5. – С. 28–29.
232. Урываева И. В. Развитие ядерных аномалий и цитомегалической дегенерации при повреждении генома в клетках печени. / И. В. Урываева, Г. В. Делоне, Т. Л. Маршак // Доклады АМН. – 1996. – С. 703–705.
233. Урываева И. В. Репликативный потенциал гепатоцитов и стволовые клетки печени / И. В. Урываева // Известия АН. Серия биологическая. – 2001. – № 6. – С. 728–737.
234. Учайкин В. Ф. Вирусные гепатиты от А до ТTV у детей / В. Ф. Учайкин, Н. И. Нисевич, Т. В. Чередниченко. – М. : Новая Волна, 2003. – 432 с.
235. Учайкин В. Ф. Вирусные гепатиты у детей : от прошлого к настоящему / В. Ф. Учайкин, С. Б. Чуелов // Детские инфекции. – 2006. – № 4. – С. 4–6.
236. Учайкин В. Ф. Вирусные гепатиты у детей : этиологическая структура, особенности течения и лечения / В. Ф. Учайкин // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1998. – № 2. – С. 4–8.

237. Учайкин В. Ф. Эволюция детских инфекций / В. Ф. Учайкин, О.В. Шамшаева // Детские инфекции. – 2010. – № 3. – С. 3-6.
238. Фадеенко Г. Д. Связь генетических факторов с прогрессированием фиброза печени при вирусных гепатитах В и С / Г. Д. Фадеенко, Н. А. Кравченко, С. В. Виноградова // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 6. – С. 82–86.
239. Фактор В. М. Полиплоидизация гепатоцитов миши при многократных воздействиях четыреххлористым углеродом / В. М. Фактор, И. В. Урываева // Бюллетень Экспериментальной биологии и медицины. – 1980. –Т. 110, № 11. – С. 614–616.
240. Факторы вируса и хозяина в развитии и прогрессировании хронических вирусных гепатитов В и С / В. В. Серов, Н. В. Бушуева, Т. М. Игнатова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2006. – № 4. – С. 12–22.
241. Фактори ризику та частота виникнення позапечінкових проявів вірусного гепатиту С / Г. І. Лисенко, С. В. Данилюк, Є. П. Вакуленко, А. В. Шевченко // Сімейна медицина. – 2009. – № 4. – С. 115–117.
242. Факторы риска и прогноза смертности при хронической инфекции, вызванной вирусом гепатит В / U. N. Pooje, H. I. Yang, S. L. Jen [et al.] // Clinical Gastroenterology and Hepatology. Русское издание. – 2007. – Vol. 2, N. 5. – P. 921–931.
243. Филимонов П. Н. Уровень фактора некроза опухоли-  $\alpha$  и степень фиброза печени у детей с хроническим вирусным гепатитом В, С и В+С при лечении интерфероном-  $\alpha$  / П. Н. Филимонов, Т. Г. Сухенко, Н. И. Гаврилова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 2. – С. 69–72.
244. Фролов В. М. Антраль – доказательная эффективность при лечении заболеваний печени / В. М. Фролов, Г. С. Григорьева // Український медичний часопис. – 2003. – № 2. – С. 65–68.



245. Фролов В. М. Досвід і перспективи застосування нового препарату Антраль у клінічній практиці / В. М. Фролов, Г. С. Григор'єва, І. В. Лоскутова // Фармакологічний вісник. – 2002. – № 2. – С. 2–5.
246. Функции ферритина как провоспалительный цитокин через независимую от железа протеинкиназу С фактор Дзэты / Ядерный фактор, КарраВ-отрегулированный, сигнализируя в крысиных печеночных ЗК / R. G. Ruddell, D. Hoang-Le, J. M. Barwood [et al.] // Hepatology. – 2009. – Vol. 49, N. 3. – P. 887–900.
247. Хаитов Р. М. Физиология иммунной системы / Р. М. Хаитов. – М. : ВИНТИ РАН, 2001. – 223 с.
248. Хайкин П. Л. Хронические гепатиты у детей и подростков (часть 2) [Электронный ресурс] / П. Л. Хайкин, Ю. С. Сапа // Педиатрия и неонатология. Медицинские статьи. – Режим доступа до журн. : <http://www.esus.ru/php/content.php?id=704&pr=print>.
249. Харченко Н. В. Сучасні гепатопротектори в лікуванні хворих із хронічними ураженнями печінки / Н. В. Харченко // Ліки України. – 2004. – № 3. – С. 14–18.
250. Холестаза и пути его коррекции в педиатрической практике : применение урсофалька / Ю. Г. Мухина, С. В. Бельмер, А. В. Дегтярева [и др.] // Фарматека. – 2005. – № 1. – С. 10–16.
251. Хронические вирусные гепатиты в Российской Федерации / И. В. Шахгильдян, П. А. Хухлович, В. В. Романенко [и др.] // Гепатологія. – 2008. – № 1. – С. 58–65.
252. Цитокиновые механизмы в формировании воспалительных заболеваний печени / В. И. Совалкин, Г. Р. Бикбавова, Н. А. Жуков [и др.] // Гепатология. – 2005. – № 1. – С. 4–7.
253. Цыркунов В. М. Сравнительная оценка морфологических показателей при верификации диагноза хронических гепатитов В и С / В. М. Цыркунов, Н. В. Матиевская, Н. И. Прокопчик // Мир вирусных гепатитов. – 2002. – № 10. – С. 28–32.

254. Чежина Н. П. Биохимические показатели обмена коллагена и эластина при фиброзе печени / Н. П. Чежина // Материалы Всероссийской 65-й итоговой студенческой научной конференции им. Н. И. Пирогова : научно-практическая конференция, Томск, 26–28 апреля 2006 г.: Под ред. акад. РАМН В. В. Новицкого, проф. Л. М. Огородовой. – Томск, 2006. – 426 с.
255. Чередниченко Т. В. Вирусные гепатиты у детей первого года жизни // Детские инфекции / Т. В. Чередниченко, И. А. Московская. – 2003. – № 4. – С. 13–18.
256. Чуров А. В. Роль трансформирующего фактора роста  $\beta$  в формировании иммуносупрессии в онкогенезе / А. В. Чуров, Е. К. Олейник, В. М. Олейник // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 11–15.
257. Шараев П. Н. Определение свободного и пептидно-связанного гидроксипролина в сыворотке крови / П. Н. Шараев, Е. П. Сахабутдинова, О. И. Лекомцева, С. В. Кошикова // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2009. – № 1. – С. 7–9.
258. Шахгильдян И. В. Вирусные гепатиты В и С в России : Эпидемиологическая характеристика и основные направления их профилактики / И. В. Шахгильдян // Инфекции, передаваемые половым путем. – 2002. – № 6. – С. 14–17.
259. Шевченко Л. Ю. Интерферон-система. Молекулярно-біологічні аспекти / Л. Ю. Шевченко // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 69–73.
260. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей. / Ш. Шерлок, Дж. Дули : пер. с англ. – М. : ГОЭТАР Медицина, 1999. – С. 846.
261. Шехтман М. М. Острые вирусные гепатиты : перинатальные исходы / М. М. Шехтман // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 4. – С. 3–6.
262. Ширяева А. П. Состояние дыхательной цепи митохондрий крыс с экспериментальным токсическим гепатитом / А. П. Ширяева, Е. В. Байдюк, А. В. Аркадьева // Цитология. – 2007. – № 49 (2). – С. 125–132.

263. Шульпекова Ю. О. Факторы риска и диагностика гепатоцеллюлярной карциномы / Ю. О. Шульпекова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2005. – № 5. – С. 2–7.
264. Шульпекова Ю. О. Эссенциальные фосфолипиды в лечении заболеваний печени / Ю. О. Шульпекова // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11, № 5. – С. 300–302.
265. Экспрессия и значение некоторых провоспалительных цитокинов у больных хроническим гепатитом С / Г. Г. Барбакадзе, Г. Т. Сулаберидзе, М. А. Квиташвили [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2005. – № 4. – С. 35–37.
266. Этиологическая структура циррозов печени у детей / С. Б. Чуелов., А. Л. Россина, А. В. Смирнов [и др.] // Детские инфекции. – 2008. – № 1. – С. 14–23.
267. Эффективность интерферонотерапии хронического гепатита С у детей с соматической патологией / В. Ф. Учайкин, А. В. Смирнов, А. Л. Россина [и др.] // Педиатрия. – 2003. – № 3. – С. 23–27.
268. Якобияк М. Імунологія / М. Якобияк : пер. з польської // Вінниця : Нова книга, 2004. – 672 с.
269. Ярилин А. А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А. А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7–14.
270. Abrignari S. Cellular immune reactions against hepatitis C core antigen in chronic hepatitis C / S. Abrignari // Gastroenterology. – 1995. – V. 108, N. 6. – P. 1957–1958.
271. Activation of hepatic stellate cells after phagocytosis of lymphocytes : a novel pathway of fibrogenesis / N. Muhanna, S. Doron, O. Wald [et al.] // Hepatology. – 2008. – Vol. 48. – P. 963–977.
272. Acute exacerbation of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T cell responses to hepatitis B core and e-antigens / S. L. Tsai, P. J. Chen, M. Y. Lai [et al.]. – Journal Clinical Investigations. – 1992. – V. 89. – P. 87–96.

273. Ahmed K. Гигантоклеточный гепатит у девушки-подростка [Электронный ресурс] / K. Ahmed, S. D. Zucker // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. – 2005. – Режим доступа до журн. : <http://elsevier.ru/gastro/cases/?id=1635>.
274. Alison M. R. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells / M. R. Alison, R. Poulson, R. Jeffery // Nature. – 2000. – Vol. 406. – P. 257.
275. Alison M. R. Liver stem cells : a two compartment system / M. R. Alison // Curr. Opin. Cell Biol. – 1998. – Vol. 10. – P. 710–715.
276. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC / A. Melhem, N. Muhanna, A. Bishara [et al.] // Journal Hepatology. – 2006. – Vol. 45. – P. 60–71.
277. Apoptosis in liver diseases – detection and therapeutic applications / S. Ghavami, M. Hashemi, K. Kadkhoda [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2005. – V. 11, N. 11. – P. 337–345.
278. Ascione A. Natural history of chronic hepatitis C virus infection / A. Ascione, T. Tartaglione, G. Di Costanzo Giuseppe // Dig. Liver Dis. – 2007. – Vol. 1. – P. 4–7.
279. Association of transforming growth factor-beta 1 functional polymorphisms with natural clearance of hepatitis C virus / T. Kimura, T. Saito, M. Yoshimura [et al.] // J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 193, N. 10. – P. 1371–1374.
280. Activation of hepatic stellate cells after phagocytosis of lymphocytes : a novel pathway of fibrogenesis / N. Muhanna, S. Doron, O. Wald [et al.] // Hepatology. – 2008. – N. 48 (3). – P. 963–977.
281. Activation of the IGF1 System Characterizes Cholangiocyte Survival During Progression of Primary Biliary Cirrhosis / P. Onori, D. Alvaro, A. R. Floreani [et al.] // J. Histochemistry, Cytochemistry. – 2007. – N. 55 (4). – P. 327–334.
282. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: effect of treatment with hydrocortisone on survival / J. Fernandez, A. Escorsell, M. Zabalza [et al.] // Hepatology. – 2006. – Vol. 44. – P. 1288–1295.

283. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis, severe sepsis and septic shock / M. H. Tsai, Y. S. Peng, Y. C. Chen [et al.] // *Hepatology*. – 2006. – Vol. 43. – P. 673-681.
284. Altered liver gene expression in CCl<sub>4</sub>-cirrhotic rats is partially normalized by insulin-like growth factor-1 / E. Mirpuri, E. R. Garcia-Trevijano, I. Castilla-Cortazar [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2002. – N. 34. – P. 242–252.
285. Anatol P. Effect of interferon alpha2b plus ribavirin treatment on selected growth factors in respect to inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C [Электронный ресурс] / P. Anatol, F. Robert, P. Danuta // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – N. 11 (12). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com/1007-9327/11/1854.asp>
286. Anti-hepatocyte growth factor antibody inhibits hepatocyte proliferation during liver regeneration / A. W. Burr, K. Toole, C. Chapman [et al.] // *J. Pathol.* – 1998. – N. 185. – P. 298–302.
287. Antifibrogenic effect in vivo of low doses of insulin-like growth factor-1 in cirrhotic rats / B. Muguerza, I. Castilla-Cortazar, M. Garcia [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2001. – N. 1536. – P. 185–195.
288. Antioxidant effects of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in rats with advanced liver cirrhosis [Электронный ресурс] / M. Garcia-Fernandez, I. Castilla-Cortazar, M. Diaz-Sanchez [et al.] // *BMC Gastroenterology*. – 2005. – N. 5. – Режим доступа до журн. : <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/5/7>.
289. Apoptosis pathway of liver cells in chronic hepatitis [Электронный ресурс] / N. L. Chen, L. Bai, L. Li [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – N. 10 (21). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com/1007-9327/10/3201.asp>.
290. Balasubramanian A. Underlying pathophysiology of HCV infection in HIV-positive drug users / A. Balasubramanian, J. E. Groopman, R. K. Ganju // *J. Addict Dis.* – 2008. – N. 27 (2). – P. 75–82.
291. Banatvala J. Lifelong protection against hepatitis B: the role of vaccine immunogenicity in immune memory / J. Banatvala, P. V. Damme, S. Oechen // *Vaccine* – 2003. – Vol. 19. – P. 877–885.

292. Barakat S. Hepatitis C virys infection in healthy Egyptian children : prevalence and risk factors / S. Barakat, S. Hafez, N. Al-Bashir // European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : book of abstracts. – Budapest, 2009. – P. 51.
293. Bataller R. Liver fibrosis / R. Bataller, D. A. Brenner // The J. of Clinical Investigation. – 2005. – V. 115. – P. 209–218.
294. Bhatt A. N. Beyond fibrogenesis : Stellate cells take center stage as immune-response modulators / A. N. Bhatt, D. H. Adams // Hepatology. – 2009. – V. 49. – Iss. 6. – P. 2115–2118.
295. Bilirubin inhibits bile acid induced apoptosis in rat hepatocytes / A. Granato, G. Gores, M. T. Vilei [et al.] // Gut. – 2003. – V. 52. – P. 1774–1778.
296. Binucleation and polyploidization patterns in developmental and regenerative rat liver growth / P. Gerlyng, A. Abyholm, T. Grotmol [et al.] // Cell Proliferation. – 1993. – V. 26. – P. 557–565.
297. Borgognone M. Signaling modulation of bile salt-induced necrosis in isolated rat hepatocytes / M. Borgognone, M. G. Roma // Toxicol. Sci. – 2005. – V. 83, N. 1. – P. 114–125.
298. Brander C. Modulation of host immune responses by clinically relevant human DNA and RNA viruses / C. Brander, B.D. Walker // Curr. Opin. Microbiol. – 2000. – V. 3, N. 4. – P. 379–386.
299. Brenner D. A. Molecular pathogenesis of liver fibrosis / D. A. Brenner // Trans. Am. Clin. and Climatol. Assoc. – 2009. – Vol. 120. – P. 361–366.
300. Brodsky W. Cell popyploidy : its relation to tissue growth and function / W. Brodsky , I. V. Uryvaeva // Int. Rev. Cytol. – 1997. – Vol. 50. – P. 275–332.
301. Bruix J. Management of hepatocellular carcinoma / J. Braix, M. Sherman // Hepatology. – 2005. – Vol. 42. – P. 1208–1236.
302. Cathepsins B and D drive hepatic stellate cell proliferation and promote their fibrogenic potential / A. Moles, N. Tarrats, J. C. Fernandez-Checa, M. Mari // Hepatology. – 2009. – Vol. 49, N. 4. – P. 1300–1307.

303. Chisari F. V. Hepatitis B virus immunopathogenesis / F. V. Chisari, C. Ferrari // *Annu. Rev. Immunol.* – 1995. – Vol. 13. – P. 29–60.
304. Chronic antigenic stimuli as a possible explanation for the immunodepression caused by liver cirrhosis / M. Marquez, C. Fernandez-Gutierrez, M. Montes-de-Oca [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology.* – 2009. – N. 158. – P. 219-229.
305. Clinical and laboratory evaluation of 101 patients with neonatal intrahepatic cholestasis [Електронний ресурс] / M. A. Bellomo-Brandao, P. D. Andrede, G. Porta [et al.] – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
306. Clinical characteristics and prognosis of pediatric hepatocellular carcinoma / S. B. Yu, H. Y. Kim, H. Eo [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – N. 11. – P. 7391-7400.
307. Clinical outcomes and treatment tolerability to combination pegylated interferon and ribavirin therapy in children with hepatitis C [Електронний ресурс] / M. Trojnar, B. Elhazin, M. Shah [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
308. Clinical Spectrum and Histopathologic of chronic hepatitis C infection in children [Електронний ресурс] / P. Mohan, S. Colvin, S. Glymph [et al.] // *J. Pediatr.* – 2007. – N. 150 (2). – Режим доступу до журн. : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1934338>.
309. Comparison of the nucleotide substitution rate of the hepatitis C virus NS5b region in mothers and their infants [Електронний ресурс] / K. Goto, K. Ito, T. Sugiura [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 електрон. опт. диск

- (CB-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000.– Назва з контейнера.
310. Complete hepatitis B virus genome analysis in HBsAg positive mothers and their infants with fulminant hepatitis B [Електронний ресурс] / M. Friedt, P. Gerner, P. Wintermeyer, S. Wirth // BMC Gastroenterology. – 2004. – V. 4. – Режим доступу до журн. : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=425580>.
311. Critical Role of Smads and AP-1 Complex in Transforming Growth factor-  $\beta$ -dependent Apoptosis [Електронний ресурс] / Y. Yamamura, X. Hua, S. Bergelson, H.F. Lodish // J. Biological Chemistry. – 2000. – N. 46. – Режим доступу до журн. : <http://www.jbc.org>.
312. Cell apoptosis and regeneration of hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization / Z. Li, D.-Y. Hu, Q. Chu [et al.] // World J. of Gastroenterology. – 2004. – V. 10 (13). – P. 1876–1880.
313. Chanussot F. Prevention by dietary (n-6) polyunsaturated phosphatidylcholines of intrahepatic cholestasis induced by cyclosporine A in animals / F. Chanussot, L. Benkoel // Life Sci. – 2003. – Vol. 73, N. 4. – P. 381–392.
314. Chendon Y. Z. World health organization strategy for control of hepatitis B. – In : Control of virus disease. Ed. E. Kurstak 2d ed. Marcel Dekker Inc., N-Y., 2003. – P. 141–164.
315. Chisari F. V. Viruses, immunity, and cancer : lessons from hepatitis B / F. V. Chisari // Am. J. Pathology. – 2000. – V. 156. – N. 4. – P. 1118–1132.
316. Classification of cell death : recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 / G. Kroemer, L. Galluzzi, P. Vandenabeele, J. Abrams [et al.] // Cell Death and Differentiation. – 2009. – V. 16. – P. 3–11.
317. Conjeevaram H. S. Management of chronic viral hepatitis in children / H. S. Conjeevaram, A. M. Di Bisceglie // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 1995. – V. 20, N. 4. – P. 365–375.
318. Consensus conference treatment of hepatitis C. Guidelines // Gastroenterol. Clin. Biol. – 2002. – N. 2. – P. 312–320.



319. Critical role of mitochondrial glutathione in the survival of hepatocytes during hypoxia / J. M. Lluís, A. Morales, L. Blasco [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 3224–3232.
320. Cui W. Tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, interleukin-8, and interferon alpha in children with viral hepatitis / W. Cui, Y. Dong, F. Fang, G. Li // *J. Tongji Med. Univ.* – 1998. – V. 18, N. 4. – P. 247–249.
321. Curry M. Effect of maintenance Peg-Intron therapy on portal hypertension and its complications: Results from the COPILOT study / M. Curry, A. Cardenas, N. H. Afdhal // *J. Hepatol.* – 2005. – Vol. 42, Suppl. 2. – P. 95.
322. Cytophotometry of liver cells from ethanol-fed rats : ethanol causes increased polyploidization and protein accumulation / J. Gaub, L. Fanerholdt, S. Keiding [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1981. – V. 11. – P. 235–237.
323. Davidson M. S. Management strategies for hepatitis C virus infection in children / M. S. Davidson, D. A. Kelly // *Pediatr. Drugs.* – 2008. – № 10 (6). – P. 357–364.
324. Davison S. Vertically acquired hepatitis C virus infection : cause for optimism / S. Davison, B. Alneaimy, S. Rajwal, P. Mcclean // *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : book of abstracts.* – Budapest, 2009. – P. 51.
325. Deficiency of NAD(P)H oxidase enhances hepatocellular injury but attenuates fibrosis after chronic carbon tetrachloride administration / G. Aram, J. J. Potter, X. Liu [et al.] // *Hepatology.* – 2009. – N. 49 (3). – P.902–911.
326. Deficiency of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form oxidase enhances hepatocellular injury but attenuates fibrosis after chronic carbon tetrachloride administration / M. S. Torbenson, E. Mezey, G. Aram [et al.] // *Hepatology.* – 2009. – N. 49 (3). – P. 911–919.
327. Delafontaine P. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels / P. Delafontaine, Y.-H. Song, Y. Li // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 435–444.

328. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection : implications for hepatitis C virus chronicity / S. L. Tsai, Y. F. Liaw, M. H. Chen [et al.] // *J. Hepatology*. – 1997. – V. 25, N. 5. – P. 449–459.
329. Devaney K. Postinfantile giant cell transformation in hepatitis / K. Devaney, Z. D. Goodman, K. G. Ishak // *Hepatology*. – 1992. – Vol. 16. – P. 327–333.
330. Diagnostic accuracy of serum biochemical fibrosis markers in children with chronic hepatitis B evaluated by receiver operating characteristics analysis / D. M. Lebensztejn, E. Skiba, J. Tobolczyk [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – V. 11 (45). – P. 7192–7196.
331. Diepolder H. M. The role of hepatitis C virus specific CD4+ T lymphocytes in acute and chronic hepatitis C / H. M. Diepolder, R. Zachoval, R. M. Hofmann // *J. Mol. Med.* – 1996. – V. 74, N. 10. – P. 583–588.
332. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell-mediated immune response / G. Missale, R. Bertoni, V. Lamonaca [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1996. – V. 98. – P. 706–714.
333. Different cytokine profiles on intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and C virus infections / A. Bertoletti, M. M. D’Elios, C. Boni [et al.] // *Gastroenterology*. – 1997. – V. 112, N. 1. – P. 193–200.
334. Differential CD4(+) and CD8(+) T-cell responsiveness in hepatitis C virus infection / K. M. Chang, R. Thimme, J. J. Melpolder [et al.] // *Hepatology*. – 2001. – V. 33, N. 1. – P. 267–276.
335. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients / B. Rehermann [et al.] // *J. Virology*. – 1996. – V. 70, N. 10. – P. 7092–7102.
336. Differential induction of serum interleukin-6 and -12 by interferon-alpha and -beta administration in chronic hepatitis C patients / M. Kido, N. Kumagai, K. Toda [et al.] // *Hepatology Res.* – 2003. – V. 27, N. 2. – P. 101–108.

337. Differential signaling to apoptotic and necrotic cell death by Fas-associated death domain protein FADD / T. V. Berghe, G. van Loo, X. Saelens [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – V. 279, N. 9. – P. 7925–7933.
338. Digernes V. Flow cytometry of nuclear DNA content in liver cirrhosis and liver tumours in rats exposed acetylaminofluorene / V. Digernes, O. H. Iversen // *Virchows Archiv (Cell Pathol.)*. – 1984. – V. 47. – P. 139–146.
339. Diverse roles of invariant natural killer T cells in liver injury and fibrosis induced by carbon tetrachloride / O. Park, W.-I. Jeong, L. Wang [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – Vol. 49, Iss. 5. – P. 1683–1694.
340. Different composition of intrahepatic lymphocytes in the immune-tolerance and immune-clearance phase of chronic hepatitis B / D. Sprengers, R. G. van der Molen, J. G. Kusters [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2006. – N. 78 (5). – P. 561–568.
341. Disruption of TAK1 in hepatocytes causes hepatic injury, inflammation, fibrosis, and carcinogenesis / S. Inokuchi, T. Aoyama, K. Miura [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2010. – N. 2. – P. 211–225.
342. Disruption of the growth hormone-signal transducer and activator of transcription 5-insulinlike growth factor 1 axis severely aggravates liver fibrosis in a mouse model of cholestasis / L. Blaas, J. W. Kornfeld, D. Schramek [et al.] // *Hepatology*. – 2010. – N. 51 (4). – P. 513–521.
343. Diverse roles of invariant natural killer T cells in liver injury and fibrosis induced by carbon tetrachloride / O. Park, W.-IL. Jeong, L. Wang // *Hepatology*. – 2009. – N. 49 (5). – P. 1103–1117.
344. E2 of Hepatitis C virus inhibits apoptosis / S. H. Lee, Y. K. Kim, C. S. Kim [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – N. 175 (12). – P. 173–189.
345. Effects of interleukin-10 on activation and apoptosis of hepatic stellate cells in fibrotic rat liver / L. J. Zhang, W. D. Zheng, M. N. Shi, X. Z. Wang // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – N. 12 (12). – P. 19–27.
346. Efficacy and safety of peginterferon-[alpha]2b and ribavirin combination therapy in children with chronic hepatitis C infection / P. Jara, L. Hierro, A. de la Vega [et al.] // *Pediatric infectious disease J.* – 2008. – Vol. 27, N. 2. – P. 142–148.

347. Estrogens and the pathophysiology of the biliary tree [Электронный ресурс] / D. Alvaro, M. G. Mancino, P. Onori [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2006. – N. 12 (22). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com/1007-9327/12/3537.asp>.
348. Expression of insulin-like growth factor 1 by activated hepatic stellate cells reduces fibrogenesis and enhances regeneration after liver injury / S. Sanz, J. B. Pukilowska, S. Liu [et al.] // Gut. – 2005. – N. 54. – P. 134–141.
349. Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellular transporter expression in mouse liver / P. Fickert, G. Zollner, A. Fuchsbichler [et al.] // Gastroenterology. – 2001. – V. 121. – P. 170–173.
350. Elias J. A. Mononuclear cell-fibroblasts interactions in the human lung / J. A. Elias, R. Kotloff // Chest. – 1991. – V. 99 (3). – P. 73–79.
351. European Paediatric Hepatitis C Virus Network. Three broad modalities in the natural history of vertically acquired hepatitis C virus infection // Clin. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 41. – P. 45–51.
352. Eve A. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection / A. Eve, Roberts, L. Yeung // Hepatology. – 2002. – Vol. 36. – P. 106–113.
353. Evolution of hepatitis C viral quasispecies and hepatic injury in perinatally infected children followed prospectively / P. Farci, I. Quinti, S. Farci [et al.] // PNAS. – 2006. – Vol. 103, N. 22. – P. 8475–8480.
354. Evolution of hepatic steatosis in patients with advanced hepatitis C : Results from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis (HALT-C) trial / A. S. Lok, J. E. Everhart, R. T. Chung [et al.] // Hepatology. – 2009. – V. 49. – Iss. 6. – P. 1828–1837.
355. Expression of TNF-alpha and immunohistochemical distribution of hepatic macrophage surface markers in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats / C. Orfila, J. C. Lepert, L. Alric [et al.] // Histochemical J. – 1999. – V. 31 (10). – P. 677–685.

356. Extrahepatic manifestation in hepatitis C virus infection / D. Olteanu, M. Argesanu, L. Radu [et al.] // *Rom. J. Intern. Med.* – 2004. – V. 42, N. 1. – P. 69–81.
357. Factor V.M., Radaeva S.A., Thorgeirsson S.S. Origin and fate of oval cells in Dipin-induced hepatocarcinogenesis in the mouse / V. M. Factor, S. A. Radaeva, S. S. Thorgeirsson // *Am. J. Pathol.*– 1994. – Vol. 145. – P. 409–422.
358. Fan X. Determination of serum cytokines in individuals with HCV infection / X. Fan, W. Liu, C. Li // *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.* – 2001. – V. 14, N. 12. – P. 145–147.
359. Fargion S. Prevalence of hepatitis C virus infection in porphyria cutanea tarda / S. Fargion, A. L. Fracanzani // *J. Hepatology* – 2003. – V. 39. – P. 635-638.
360. Fogt F. Alterations in nuclear ploidy and cell phase distribution of rat liver cells in experimental alcoholic liver disease : relationship to antioxidant enzyme gene expression / F. Fogt, A. A. Nanji // *Toxicology and applied pharmacology.* – 1996. – V. 136, Iss. 1. – P. 87–93.
361. Friedman S. L. Hepatic fibrosis 2006 : report of the Third AASLD Single Topic Conference / S. L. Friedman, D. C. Rockey, D. M. Bissell // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45. – P. 242–249.
362. Friedman S. L. Hepatic stellate cells : protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver / S. L. Friedman // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88. – P. 125–172.
363. Friedman S. L. Hormone replacement therapy and fibrosis progression in HCV-infected woman / S. L. Friedman // *Hepatology.* – 2004. – Vol. 40, N. 6. – P. 1426–1433.
364. Friedman S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis / S. L. Friedman // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1655–1669.
365. Fibrosis in chronic hepatitis C acquired in infancy : is it only a matter of time? [Электронный ресурс] / M. Guido, F. Bortolotti, G. Leandro [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2003. – N. 98 (3). – Режим доступа до журн. : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12650803>.

366. Fibro-C-Index-A standardized quantification of liver fibrosis using second harmonic generation and two-photon microscopy [Електронний ресурс] / D. C. S. Tai, N. Tan, A. C. H. Kang [et al.]. – 80Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
367. Fibrogenesis in pediatric cholestatic liver disease : role of taurocholate and Hepatocyte-derived monocyte chemoattractant protein-1 in hepatic stellate cell recruitment // G. A. Ramm, R. W. Shepherd, A. C. Hoskins [et al.] // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 49, N. 2. – P. 533–544.
368. Friedman S. L. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis / S. L. Friedman // *Gastroenterology*. – 2008. – N. 134(6). – P. 1655–1669.
369. Ghiassi-Nejad Z. Advances in anti-fibrotic therapy / Z. Ghiassi-Nejad, S. L. Friedman // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. – 2008. – N. 2 (6). – P. 803–816.
370. Ginkgo biloba extract reverses CCl4-induced liver fibrosis in rats / Y. J. Luo, J. P. Yu, Z. H. Shi, L. Wang // *World J. Gastroenterol*. – 2004. – N. 10 (7). – P. 1037–1042.
371. Guicciardi M. E. Apoptosis : a mechanism of acute and chronic liver injury / M. E. Guicciardi, G. J. Gores // *Gut*. – 2005. – N. 54. – P. 1024–1033.
372. Guido M. Chronic viral hepatitis in children : any role for the pathologist? [Електронний ресурс] / M. Guido, F. Bortolotti // *Gut*. – 2008. – N. 57 (7). – P. 873–877. Режим доступу до журн. : <http://gut.bmj.com/cgi/content/full/57/7/873>.
373. Giannandrea M. Indirect action of tumor necrosis factor-alpha in liver injury during the CD8+ T cell response to an adeno-associated virus vector in mice / M. Giannandrea, R. H. Pierce, I. N. Crispe // *Hepatology*. – 2009. – V. 49, Iss. 6. – P. 2010–2020.

374. Gorla G. R. Polyploidy associated with oxidative injury attenuates proliferative potential of cells / G. R. Gorla, H. Malhi, S. Gupta // *J. Cell Sci.* – 2001. – Vol. 114. – P. 2943–2951.
375. Gregorio G. V. Viral Hepatitis / G. V. Gregorio, G. Mieli-Vergani, A. P. Mowat // *Arch. Dis. Child.* – 1994. – V. 70. – N. 4. – P. 343–348.
376. Guido M. Chronic hepatitis C in children : the pathological and clinical spectrum / M. Guido, M. Rugge, P. Jara // *Gastroenterology.* – 1998. – V. 115. – P. 1525–1529.
377. Guido M. Liver biopsy sampling in chronic viral hepatitis / M. Guido, M. Rugge // *Semin. Liver Dis.* – 2004. – Vol. 24, N. 1. – P. 89–97.
378. Gupta S. Hepatic polyploidy and liver growth control / S. Gupta // *Semin. Cancer Biol.* – 2000. – Vol. 10. – P. 161–171.
379. HALT-C Trial Group. Herbal product use by persons enrolled in the hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against cirrhosis (HALT-C) Trial / L. B. Seeff, T. M. Curto, G. Szabo [et al.] // *Hepatology.* – 2008. – Vol. 47, N 2. – P. 605–612.
380. Harrison S. A. Резистентность к инсулину у больных хроническим гепатитом С : ее этиология и влияние на тактику лечения [Электронный ресурс] / S. A. Harrison // *Клиническая гастроэнтерология и гепатология.* – 2008. – № 5. – Режим доступа до журн. : [http://elsevier.ru/gastro/2008\\_5/id=1589](http://elsevier.ru/gastro/2008_5/id=1589).
381. Hawley R. G. New feature : stem cells in the news / R. G. Hawley, D. A. Sobieski // *Stem Cells.* – 2002. – Vol. 20. – P. 103–104.
382. HCV replication in mononuclear cells stimulates anti-HCV-secreting B cells and reflects nonresponsiveness to interferon-alpha / H. F. Lohr, B. Coergen, K. H. M. Buschenfelde, G. Gerken // *J. Med. Virology.* – 1995. – V. 46. – N. 4. – P. 314–321.
383. Hepatic nuclear ploidy distribution of dietary-restricted mice / M. H. Lu, W. G. Hinson, D. He [et al.] // *Environmental health perspectives.* – 1993. – V. 101, Suppl. 5. – P. 229–234.

384. Hepatitis C viral quasispecies and liver damage in patients with chronic hepatitis C virus infection / J. Hayashy, Y. Kishihara, K. Yamaji [et al.] // *Hepatology*. – 1997. – V. 2, N. 3. – P. 697–702.
385. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in 373 Italian children with HCV infection : changing distribution and correlation with clinical features and outcome / F. Bortolotti, M. Resti, M. Marcellini [et al.] // *Gut*. – 2005. – Vol. 54. – P. 852–857.
386. Hepatitis C virus (HCV) – specific cytotoxic T lymphocytes recognize epitopes in the core and envelope proteins of HCV / M. J. Koziel, D. Dudley, N. Afdhal [et al.] // *J. Virology*. – 1993. – Vol. 67. – P. 7523–7532.
387. Hepatitis C virus infection associated with liver-kidney microsomal antibody type 1 (LKM1) autoantibodies in children / F. Bortolotti, L. Muratori, P. Jara [et al.] // *J. Pediatr*. – 2003. – Vol. 142. – P. 185–190.
388. Hepatitis C virus infection of mononuclear cells : Relation with response to interferon treatment / G. Taliani, M. C. Badolato, R. Lecce [et al.] // *J. Med. Virology*. – 1995. – V. 47, N. 1. – P. 16–23.
389. Hepatitis C virus persisting after clinically apparent sustained virological response to antiviral therapy retains infectivity in vitro / S. A. MacParland, N. Q. Tram Pham, S. Guy Clifford [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – V. 49, Iss. 5. – P. 1431–1441.
390. Hepatocyte mitochondrion electron-transport chain alterations in CCl<sub>4</sub> and alcohol induced hepatitis in rats and their correction with simvastatin / A. Shiryayeva, E. Baidyuk, A. Arkadieva [et al.] // *J. Bioenerg. Biomembranes*. – 2008. – Vol. 40. – P. 27–34.
391. Herbein G. Tumor necrosis factor (TNF)-alpha and TNF receptors in viral pathogenesis / G. Herbein, W. A. O'Brien // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 2000. – V. 223. – P. 241–257.
392. Heuman D. M. Adsorption of mixtures of bile salt taurine conjugates to lecithin-cholesterol membranes : implications for bile salt toxicity and cytoprotection / D. M. Heuman, R. S. Bajaj, Q. Lin – *J. Lipid Res.* – 1996. – № 37. – P. 562–573.



393. Hieter P. Polyploidy-more is more or less. / P. Hieter, T. Griffiths – 1999. – Vol. 285. – P. 210–211.
394. High prevalence of significant fibrosis in patients with immuno-tolerance to chronic hepatitis B infection / C. Wang, H. Deubner, M. Shuhart [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – Vol.63. – P. 573.
395. Higuchi H. Bile acid regulation of hepatic physiology IV. Bile Acids and death receptors / H. Higuchi, G. J. Gores // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – V. 2847. – P. 734–738.
396. Hirano F. Effect of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid on major histocompatibility complex class I gene expression / F. Hirano, H. Tanaka, Y. Makino // *J. Gastroenterology*. – 1996. – V. 31, N 1. – P. 55–61.
397. Hofmann A. F. Bile science (cholanology) at the dawn of a new millennium : past progress and challenges for the future. Bile acids in hepatobiliary disease / A. F. Hofmann // Ed. by Northfield T. C. et al., Dordrecht. – 2000. – P. 303–331.
398. Hong F. Hepatic stellate cells express functional CXCR4 : Role in stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ -mediated stellate cell activation / F. Hong, A. Tuyama, T.F. Lee // *Hepatology*. – 2009. – V. 49, Iss. 6. – P. 2055–2067.
399. Host-and disease specific factor affecting steatosis in chronic hepatitis C / A. J. Czaja, H. F. Carpenter, P. J. Santrach [et al.] // *Hepatology*. – 1998. – Vol. 29. – P. 198–206.
400. Hughes C. A. Chronic hepatitis C virus management : 2000-2005 update / C. A. Hughes, S. D. Shafran // *Ann. Pharmacother.* – 2006. – V. 40, N. 1. – P. 74–82.
401. Hepatitis C virus core protein induces apoptosis-like caspase independent cell death / C. P. Berg, S. F. Schlosser, D. K. H. Neukirchen [et al.] // *Virology J.* – 2009. – N. 6. – P. 213.
402. Hepatitis C virus core protein modulates TRAIL-Mediated apoptosis by enhancing Bid Cleavage and activation of Mitochondria Apoptosis Signaling

- Pathway / A. H. Chou, H. F. Tsai, Y. Y. Wu [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – N. 174(4). – P. 2160–2166.
403. Hepatitis C virus infection acquired in childhood / C. Camarero, N. Ramos, A. Moreno, A. Asensio [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 2008. – Vol. 167. – P. 219–224.
404. Histopathology of the liver in children with chronic hepatitis C viral infection / K. Badizadegan, M. M. Jonas, M. J. Ott [et al.] // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 28, N. 5. – P. 1416–1423.
405. Hofmann A. F. Bile acids : trying to understand their chemistry and biology with the hope of helping patients / A. F. Hofmann // *Hepatology.* – 2009. – Vol. 49, N. 5. – P. 1403–1418.
406. Hohenester S. Primary biliary cirrhosis / S. Hohenester, R. P. J. Oude-Elferinc, U. Beuers // *Semin Immunopathol.* – 2009. – N. 31. – P. 283–307.
407. IGF-1 induces DNA synthesis and apoptosis in rat liver hepatic stellate cells (HSC) but DNA synthesis and proliferation in rat liver myofibroblasts (rMF) / B. Saile, P. DiRocco, J. Dudas [et al.] // *Laboratory investigation.* – 2004. – Режим доступа до журн. : <http://www.gastroenterologie.uni-goettingen.de/IGF.pdf>.
408. Influence of interferon alpha therapy in the count and function of T lymphocytes in children with chronic hepatitis C / T. Wozniakowska-Gesicka, M. Wisniewska-Ligier, J. Kups [et al.] // *Pol. Mercuriusz. Lek.* – 2001. – V. 11, N. 64. – P. 344–347.
409. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and type 1 collagen accumulation by human hepatic stellate cells : differential effects on signal transduction pathways / G. Svegliati-Baroni, F. Ridolfi, A. Di Sario [et al.] // *Hepatology.* – 1999. – Vol. 29. – P. 1743-1751.
410. Insulin-like growth factor signaling pathways in rat hepatic stellate cells : importance for deoxyribonucleic acid synthesis and hepatocyte growth factor production / S. Skrtic, K. Wallenius, A. M. Gressner [et al.] // *Endocrinology.* – 1999. – N. 140 (12). – P. 5729 – 5735.

411. Insulin-like growth factor stimulate expression of hepatocyte growth factor but not transforming growth factor beta 1 in cultured hepatic stellate cells / S. Skrtic, K. Wallenius, S. Ekberg [et al.] // *Endocrinology*. – 1997. – Vol. 138, N. 11 – P. 4683–4689.
412. Immune stimulation of hepatic fibrogenesis by CD8 cells and attenuation by transgenic interleukin-10 from hepatocytes / R. Safadi, M. Ohta, C. E. Alvarez [et al.] // *Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 127. – P. 870–882.
413. Immunology and the liver / M. Peters, J. Vierling, M. F. Gershwin [et al.]. – *Hepatology*. – 1991. – V. 13. – P. 977–994.
414. Impaired induction of cytotoxic T-lympocytes by antagonism of a weak antagonist borne a variant hepatitis C virus epitope / T. Kanero, T. Moriyama, K. Udara [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 1997. – V. 27. – P. 1782–1787.
415. IGF-1 reduces inflammatory responses, suppresses oxidative stress, and decreases atherosclerosis progression in ApoE-Deficient mice / S. Sukhanov, Y. Higashi, S.-Y. Shai, C. Vaughn [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2007. – Vol. 27. – P. 2684–2690.
416. Interferon-alpha and ribavirin treatment of hepatitis C in children with malignancy in remission / B. Christerson, T. Wiebe, A. Akesson [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2000. – N. 30. – P. 585–586.
417. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and type I collagen accumulation by human hepatic stellate cells : differential effects on signals transduction pathways / G. Svegliati-Baroni, F. Rigolfi, A. Di Sario [et al.] // *Hepatology*. – 1999. – V. 29. – P. 1743–1751.
418. Iorio R. Is liver biopsy mandatory in children with chronic hepatitis C? / R. Iorio, A. Verrico, A. Giannattasio // *World Journal of Gastroenterology*. – 2007. – V. 13, N. 29. – P. 4025–4026.
419. Iredale J. P. Models of liver fibrosis : exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ / J. P. Iredale // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 539–548.

420. Kage M. Pathology of chronic hepatitis C in children / M. Kage, T. Fujisawa, K. Shiraki // *J. Hepathology*. – 1997. – V. 26. – P. 771–775.
421. Keeffe E. B. Хронический гепатит С : тактика при неэффективности лечения / E. B. Keeffe // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. Русское издание. – 2008. – Т. 1, № 5. – С. 329–332.
422. Kondrackiene M. Эффективность и безопасность урсодезоксихолиевой кислоты по сравнению с холестирамином при внутripеченочном холестазе беременных / M. Kondrackiene, U. Beuers, L. Kupcinskas // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. Русское издание. – 2008. – Т. 1, № 6. – С. 407–413.
423. Koziel M. J. Cytokines in viral hepatitis / M. J. Koziel // *Seminars in liver disease*. – 1999. – V. 19, N. 2. – P. 157–169.
424. Krishan A. DAPI fluorescence in nuclei isolated from tumors / A. Krishan, P. D. Dandekar // *Journal of Histochemistry and cytochemistry*. – 2005. – V. 53 (8). – P.1033–1036.
425. Kawada N. Human hepatic stellate cells are resistant to apoptosis : implications for human fibrogenic liver disease / N. Kawada // *Gut*. – 2006. – N. 55. – P. 1071–1073.
426. Koike K. Antiviral treatment of hepatitis C : present status and future prospects / K. Koike // *J. Infect. Chemother*. – 2006. – Vol. 12. – P. 227–232.
427. Koike K. Oxidative stress and hepatitis C viral infection / K. Koike, H. Miyoshi // *Hepatol Res*. – 2006. – N. 34. – P. 65–76.
428. Kumagi T. Primary biliary cirrhosis [Электронный ресурс] / T. Kumagi, T. J. Heathcote // *Journal of Rare Diseases*. – 2008. – N. 3. – Режим доступа до журн. : <http://www.ojrgd.com>.
429. Liver cancer-derived hepatitis C virus core proteins shift TGF-beta responses from tumor suppression to epithelial-mesenchymal transition [Электронный ресурс] / S. Battaglia, N. Benzoubir, S. Nobilet [et al.] // *PLoS One*. – 2009, – N. 4. – Режим доступа до журн. : <http://www.plosone.org>.

430. LaBrecque D. Liver regeneration : a picture emerges from the puzzle / D. LaBrecque // *Amer. Journal Gastroenterology*. – 1994. – V. 89, Suppl. 8. – S. 86–90.
431. Laconi E. Differential grown from carcinogenesis to liver regeneration / E. Laconi // *Am. Journal Pathology*. – 2000. – Vol. 156. – P. 389–392.
432. Lamason R. Sexual dimorphism in immune response genes as a function of puberty / R. Lamason, Z. Po, R. Rawat // *BMC Immunology*. – 2006. – N. 7. – P. 2–5.
433. Lazaridis K. N. Ursodeoxycholic acid “mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders” / K. N. Lazaridis, G. J. Gores, K. D. Lindor // *Journal Hepatology*. – 2001. – V. 35. – P. 134–146.
434. Lee K. S. Hepatic fibrogenesis / K. S. Lee // *Korean J. Gastroenterol*. – 2006. – Vol. 48, N. – P. 297–305.
435. Lemasters J. J. Mechanism of hepatic toxicity V. Necroapoptosis and the mitochondrial permeability transition : shared pathways to necrosis and apoptosis / J. J. Lemasters // *Am. Journal Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. – 1999. – V. 276. – P. 1–6.
436. Liver regeneration after partial hepatectomy is non-uniform : flow cytometric bromodeoxyuridine incorporation and cell cycle studies in a porcine model / L. Sun, P. K. H. Chow, S. M. C. Fook-Chong [et al.] // *Research in Experimental medicine*. – 1999. – V. 198. – P. 229–236.
437. Liver regeneration in the rats with retrorsine induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response. / G. L. Gordon, W. B. Coleman, D. S. Hixson [et al.] // *Am. Journal Pathol*. – 2000. – Vol. 156. – P. 607–619.
438. Lok A. S. Chronic hepatitis B / A. S. Lok, B. J. MacMahon // *Hepatology*. – 2007. – Vol. 45, N. 2. – P. 507–539.
439. Long-term outcome of hepatitis B-e antigen-negative hepatitis B surface antigen carriers in relation to changes of alanine aminotransferase levels over time / D. I. Tai, S. M. Lin, I. S. Shyan [et al.] // *Hepatology*. – 2009. – V. 49, Iss. 6. – P. 1859–1867.

440. Lopez C. E. Effectiveness of the interferon pegilado+ribavirin in the sustained viral response in children with hepatitis C [Электронный ресурс] / C. E. Lopez, E. Pestana. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
441. Maier P. Cell-cycle and ploidy analysis in bone marrow and liver cells of rats after long-term consumption of irradiated wheat / P. Maier, I. Wenk-Siefert, H. P. Schawalder // *Fd Chem. Toxic.* – 1993. – V. 31, N. 6. – P. 395–405.
442. Martino V. Di. Progression of liver fibrosis in women infected with hepatitis C : Long-term benefit of estrogen exposure / V. Di. Martino // *Hepatology.* – 2004. – Vol. 40, N. 6. – P. 1426–1433.
443. McKay R. Building animals from stem cells / R. McKay // *Ann. NY Acad.* – 2002. – Vol. 961. – P. 44.
444. Mechanism of hepatic toxicity. I. TNF-induced liver injury / C. A. Branham, J. Plumpe, M. P. Manns [et al.] // *Am. J. Physiology.* – 1998. – V. 38. – P. 387–392.
445. Mechanisms of hepatocellular death in acute liver failure of indeterminate aetiology in children / A. Mustafa, R. Mitry, K. Ngianga-Bakwin [et al.] // *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : book of abstracts.* – Budapest, 2009. – P. 52.
446. Michelsen P. P. Viral Hepatitis and pregnancy / P. P. Michelsen, P. van Damme // *Acta Gastroenterol. Belg.* – 1999. – Vol. 62. – P. 21–29.
447. Min L. Inhibition of Fas/FasL mRNA expression and TNF $\alpha$  release in concanavalin A-included liver in mice by Bicyclol / L. Min, L. Geng. // *World. J. Gastroenterol.* – 2004. – N. 10. – P. 1775–1779.
448. Mondelli M. U. Is there a role for immune responses in the pathogenesis of hepatitis C? / M. U. Mondelli // *J. Hepatology.* – 1996. – V. 25. – N. 2. – P. 232–239.

449. Multicenter trial of peginterferon alfa-2a and ribavirin for paediatric chronic hepatitis C / E. Sokal, A. Bourgois, X. Stephenne [et al.] // European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : Book of abstracts. – Budapest, 2009. – P. 9.
450. Multiparameter flow cytometric analysis of hepatic nuclear RNA and DNA of normal and hepatotoxin-treated mice / P. J. Higgins, M. Piwnicka, M. Darzinkiewicz [et al.] // Am. J. Pathology. – 1984. – V. 115 (1). – P. 31–35.
451. Malhi H. Cellular and molecular mechanisms of liver injury / H. Malhi, G. J. Gores // Gastroenterology. – 2008. – N. 134 (6). P. 417-422.
452. Mani H. Liver biopsy findings in chronic hepatitis B / H. Mani, D. E. Kleiner // Hepatology. – 2009. – Vol. 49, N. 5. – P. 861–871.
453. Mitochondrial protection by low doses of insulin-like growth factor-1 in experimental cirrhosis [Электронный ресурс] / R. Perez, M. Garcia-Fernandez, M. Diaz-Sanchez [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2008, May. – N. 14 (17). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com/1007-9327/14/2731.asp>.
454. Mutation in collagen-1 that confers resistance to the action of collagenase results in failure of recovery from CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis, persistence of activated hepatic stellate cells, and diminished hepatocyte regeneration / R. Issa, X. Zhou, N. Trim [et al.] // FASEB J. – 2003. – N. 17. – P. 47-49.
455. Natural history of chronic HBV infection in children of Northern Greece : an 11-year follow-up [Электронный ресурс] / S. Karyda, E. Gialama, K. Patsiaoura [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
456. Negro F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection [Электронный ресурс] / F. Negro // World J. Gastroenterol. – 2006. – N. 12 (42). - Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com>.
457. Neonatal liver failure – A tertiary centre experience [Электронный ресурс] / N. P. Shanmugam, M. M. Aw, N. Bab, A. Dhawan. – 80 Min / 700 MB. – World

- Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM); 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
458. Nitric oxide promotes caspase-independent hepatic stellate cell apoptosis through the generation of reactive oxygen species / D. A. Langer, A. Das, D. Semela [et al.] // *Hepatology*. – 2008, Jun. – N. 47 (6). – P. 1983–1993.
459. Naoumov N. V. Host immune response and variations in the virus genome : Pathogenesis of liver damage caused by hepatitis B virus / N. V. Naoumov, A. L. Eddleston // *Gut*. – 1994. – V. 35, N. 8. – P. 1013–1017.
460. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners / S. Radaeva, R. Sun, B. Jaruga [et al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 130. – P. 435-452.
461. Nezgoda I. Morphological characteristic of viral hepatitis lethal cases at children / I. Nezgoda, N. Rikalo, S. Singh // 27<sup>th</sup> annual meeting of the European society for paediatric infectious diseases : poster abstracts, Brussels, Belgium, June 9-13, 2009 : – *The pediatric Infectious Disease Journal*. – 2009. – Vol. 28, N. 6. – P. 221.
462. Nezgoda I. Pathogenetical characteristic of the clinical and biochemical indexes at chronic viral hepatitis in children / I. Nezgoda, N. Rikalo // 28<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases : poster abstracts, Nice, France, May 4-8, 2010 : – *Nica*, 2010. – P. 921.
463. Niederau C. Polyunsaturated phosphatidyl-choline and interferon alpha for treatment of chronic hepatitis B and C : Multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial / C. Niederau, G. Strohmeyer, T. Heinges // *Hepatogastroenterology*. – 1998. – Vol. 45. – P. 797–804.
464. Non-organ specific autoantibodies in children with chronic hepatitis C / F. Bortolotti, P. Vajro, F. Balli [et al.] // *J. Hepatology*. – 1996. – Vol. 25. – P. 614–620.



465. Omagari K. Flow cytometric analysis of the cellular DNA content in various liver diseases / K. Omagari, T. Imanishi, K. Makiyama // *Acta Med. Nagasaki*. – 1994. – Vol. 37. – P. 5–8.
466. Oneta C. M. Dilinoleoylphosphatidilcholine selectively modulates lipopolysaccharideinduced Kupffer cell activation / C. M. Oneta, K. M. Mak, C. S. Lieber // *J. Lab. Clin. Med.* – 1999. – Vol. 134, N. 5. – P. 466–470.
467. Oppenheim J. Cytokine Reference / J. Oppenheim, M. Feidman. – London : Academic. Press, 2000. – 2015 p.
468. Overexpression of insulin receptor substrate-1 and hepatitis B genes causes premalignant alterations in the liver / L. Longato, S. de la Monte, N. Kuzushita [et al.] // *Hepatology*. – 2009. – V. 49, Iss. 6. – P. 1935–1943.
469. Ogawa T. Effect of natural interferon  $\alpha$  on proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells / T. Ogawa, N. Kawada, K. Ikeda // *Hepatol. Int.* – 2009. – N. 3. – P. 497–503.
470. Overexpression of Bcl-2 by activated human hepatic stellate cells : resistance to apoptosis as a mechanism of progressive hepatic fibrogenesis in humans [Электронный ресурс] / E. Novo, F. Marra, E. Zamara [et al.] // *Gut*. – 2006. – N. 55 (8). – Режим доступа до журн. : <http://www.gutjnl.com>.
471. Pathology of chronic hepatitis C in children : liver biopsy findings in the Peds-C Trial [Электронный ресурс] / Z. D. Goodman, H. R. Makhlof, L. Liu [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – N. 47 (3). – Режим доступа до журн. : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18167062>.
472. Patological changes and chinal manifestations of 1020 children with liver diseases confirmed by biopsy [Электронный ресурс] / H. F. Zhang, X. J. Yang, S. S. Zhu [et al.] // *Hepatology & Pancreatic Diseases International (HBPD)*. – 2004. – Режим доступа до журн. : <http://www.hbpdint.com/text.asp?id=264>.
473. Paumgartner G. Medical treatment of cholestatic liver diseases : From pathobiology to pharmacological targets [Электронный ресурс] / G. Paumgartner // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – N. 12 (28). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com>1007-9327/12/4445.asp.

474. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load / U. H. Loeje, H. I. Yang, J. Su [et al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – N. 130 (3). – P. 678–686.
475. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study / P. Pradat, A. Alberti, T. Poynard [et al.] // *Hepatology*. – 2002. – Vol. 36, N. 4, Pt. 1. – P. 973–977.
476. Preventive and therapeutic effects in rats of hepatocyte growth factor infusion on liver fibrosis/cirrhosis / Y. Matsuda, K. Matsumoto, A. Yamada [et al.] // *Hepatology*. – 1997. – N. 26 (1). – P. 81–89.
477. Prosser C. C. Molecular therapy for hepatic injury and fibrosis : where are we? / C. C. Prosser, R. D. Yen, J. Wu // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – N. 12 (4). – P. 509–515.
478. Purohit V. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver / V. Purohit, B. Gao, B. J. Song // *Alcohol clin Exp. Res.* – 2009. – N. 33 (2). – P. 191–205.
479. Pusl T. Ursodeoxycholic acid treatment of vanishing bile duct syndromes [Электронный ресурс] / T. Pusl, U. Beuers // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – N. 12 (22). – Режим доступа до журн. : <http://www.wignet.com>.
480. Park N. H. Chronic hepatitis B in hepatocarcinogenesis / N. H. Park, I. H. Song, Y.-H. Chung // *Postgrad. Med. J.* – 2006. – N. 82. – P. 507–515.
481. Park O. Diverse roles of invariant natural killer T cells in liver injury and fibrosis induced by carbon tetrachloride / O. Park, W.-I. Jeong, L. Wang [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – Vol. 49, Iss. 5. – P. 1683–1694.
482. Partial hepatectomy-induced polyploidy attenuates hepatocytes replication and activates cell aging events / S. H. Sigal, P. Rajvanshi, G. R. Gorla [et al.] // *Amer. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276. – P. 1260–1272.
483. Patel T. Apoptosis in hepatic pathophysiology / T. Patel // *Clin. Liver. Dis.* – 2000. – V. 4, N. 2. – P. 295–317.
484. Paumgartner G. Ursodeoxycholic Acid in Cholestatic Liver Disease : Mechanisms of Action and Therapeutic Use Revisited / G. Paumgartner, U. Beuers // *Hepatology*. – 2002. – V. 36. – P. 525–531.

485. Pembrey L. Age-related lymphocyte and neutrophil levels in children of hepatitis C – infected women / L. Pembrey, M. L. Newell, P. A. Tovo // *Pediatric Infectious Diseases J.* – 2008. – V. 27, N. 9. – P. 800–807.
486. Perinatal hepatitis C virus infection : diagnosis and management / S. M. Davison, G. Mieli-Vergani, J. Sira [et al.] // *Archives of Disease in Childhood.* – 2006. – Vol. 91. – P. 781–785.
487. Petrova M. Breastfeeding and chronic HBV infection: Clinical and social implications / *World J. Gastroenterol.* – 2010. – V. 16. – P. 5042–5046.
488. Pianko S. Hepatocyte apoptosis is increased in chronic HCV infection and alcohol use / S. Pianko, W. Seivert // *Gastroenterology.* – 1997. – V. 112, N. 2. – P. 1359.
489. Platt J. Infant transplant resist infections in immunodeficient states / J. Platt, B. Ogle, R. Razonable // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, N. 3. – P. 1962–1967.
490. Polyenylphosphatidilcholine is beneficial for the treatment of hepatitis C patients / C. S. Lieber, B. S. Anand, E. J. Bini [et al.] // *Hepatology.* – 2005. – Vol. 42, N. 4, Suppl. 1 – P. 695.
491. Possibility of contribution to chronicity of HCV infection of apoptosis in peripheral specific T cells for HCV-related antigen / K. Emi, K. Yuh, K. Nakamura [et al.] // *Gastroenterology.* – 1997. – V. 112, N. 2. – P. 1260.
492. Post-infantile giant cell hepatitis : histological and immunohistochemical study / S. J. Johnson, J. Mathew, R. N. M. MacSween [et al.] // *J. Clin. Pathology.* – 1994. – Vol. 47. – P. 1022–1027.
493. Poupon R. E. Management of primary biliary cirrhosis resistant to UDCA therapy / R. E. Poupon // *J. Hepatology.* – 2000. – N. 32, Suppl. 2. – P. 19–20.
494. Prevalence and risk factors for hepatitis C virus infection in Mongolian children : Findings from a nationwide survey / D. Davaalkham, T. Ojima, P. Nymadawa [et al.] // *J. Medical Virology.* – 2006. – Vol. 78. – P. 466–472.
495. Reduction of hepatocarcinogenesis by ursodeoxycholic acid in rats / K. Oyama, G. Shiota, H. Ito [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2005. – N. 5. – P. 885–892.

496. Relative elevation of coagulation factors in severe cholestatic liver disease [Електронний ресурс] / M. Magnusson, B. Fischler, J. Svensson [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008, Aug. – 1 електрон. опт. диск (CB-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
497. Rerksupraphol S. Long-term outcome of vertically acquired and post-transfusion hepatitis C infection in children / S. Rerksupraphol, W. Hardika, G. J. Dore // *J. Gastroenterol Hepatol.* – 2004. – V. 19. – P. 1357–1362.
498. Response to pegylated interferon/ribavirin in chronic hepatitis C depends on pretreatment numbers of natural killer (NK) [Електронний ресурс] / I. Carey, D. Sebecauerova, S. Bansal [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008, Aug. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги** : Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
499. Rikalo N. A. The clinical and pathogenetical analysis of the lethal case of viral hepatitis C in child / N. A. Rikalo, I. I. Nezgoda, T. M. Slobodyanyuk // *Патологія.* – 2008. – Т. 5, № 2. – С. 89.
500. Roberts E. A. Neonatal hepatitis syndrome / E. A. Roberts // *Semin. Neonatol.* – 2003. – Vol. 8. – P. 357–374.
501. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis / A. M. Gressner, R. Weiskirchen, K. Breitkopf [et al.] // *Front. Biosci.* – 2002. – Vol. 7. – P. 793–807.
502. Romero R. Cytokine inhibition of the hepatitis D virus core promoter / R. Romero, J. E. Lavine // *Hepatology.* – 1996. – V. 23 (1). – P. 17–23.
503. Rosenthal P. Hepatitis C in children update 2006 [Електронний ресурс] / P. Rosenthal // *The HCV Advocate.* – 2006. – N. 3. – Режим доступу до журн. : <http://www.hcvadvocate.org>.

504. Role of transforming growth factor  $\beta$ 1 on hepatic regeneration and apoptosis in liver diseases / S. Takiya, T. Tagaya, K. Takahashi [et al.] // *J. Clin Pathol.* – 1995. – N. 48 (12). – P. 1093–1097.
505. Safety, efficacy and pharmacokinetics of peginterferon alpha 2a (40 kd) in children with chronic hepatitis C / K. B. Schwarz, P. Mohan, M. R. Narkewicz [et al.] // *J. Pediatr Gastroenterol. Nutr.* – 2006. – N. 43 (4). – P. 499–505.
506. Sailer R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases / R. Sailer, R. Meier, R. Brignoli // *Drugs.* – 2001. – Vol. 61, N. 14. – P. 2035–2063.
507. Selenium supplementation decreases hepatic fibrosis in mice after chronic carbon tetrachloride administration / M. Ding, J. J. Potter, X. Liu [et al.] // *Biol Trace Elem Res.* – 2010. – N. 133 (1). – P. 83–97.
508. Serum growth hormone-binding protein-like growth factor-1 and growth hormone in patients with liver cirrhosis / N. Hattori, H. Kurahachi, K. Ikekubo // *Metabolism.* – 1992. – N. 41. – P. 1073–1078.
509. Side effect profile versus response to pegylated interferon (peg-IFN) + ribavirin in children with chronic hepatitis C virus (HCV) infection [Електронний ресурс] / S. Bansal, I. Carey, D. Cebecauerova [et al.]. – 80 Min / 700 MB. – World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. – 2008, Aug. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – **Систем. вимоги :** Pentium-266 ; 32 Mb RAM ; Windows 95, 98, 2000, XP ; MS Word 97-2000. – Назва з контейнера.
510. Sandgren E. P. Complete regeneration after deletion of an albumin plasminogen activator transgene / E. P. Sandgren, R. D. Palmiter, J. L. Heckel // *Cell.* – 1991. – Vol. 66. – P. 245–256.
511. Santiago T. Thyroid hormone regulation of rat hepatocytes proliferation and polyploidization / T. Santiago, B. P. Diaz, J. J. Cabrera [et al.] // *Am. J. Physiology.* – 1999. – V. 276. – P. 155–163.
512. Schinoni M. I. Apoptosis and selected liver diseases / M. I. Schinoni, R. Parana, D. Cavalcante // *Brazilian J. of Infectious Diseases.* – 2006. – N. 10 (2). – P. 117–121.

513. Sciveres M. Gigant cell hepatitis associated to autoimmune haemolytic anemia : a 25 years retrospective, multicentric study / M. Sciveres, G. Maggiore, L. Gori // European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : Book of abstracts. – Budapest, 2009. – P. 8.
514. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis / V. Krizhanovsky, M. Yon, R. A. Dickins [et al.] // Cells. – 2008. – Vol. 134. – P. 657–667.
515. Serum levels of cytokines in hepatitis C-related liver disease : a longitudinal study / Y. S. Huang, S. Hwang, S. Y. Chan [et al.] // Chung. Hua. I. Hsueh. Tsa. Chin. – 1999. – V. 62 (6). – P. 327–333.
516. Serum levels of soluble tumor necrosis factor receptors and affects therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection / Y. Itoh, T. Okanoue, N. Ohnishi [et al.] // Am. J. Gastroenterology – 1999. – V. 94. – P. 1332–1340.
517. Shanmugam N. Age and etiology related outcome of acute liver failure in paediatric age group / N. Shanmugam, S. Jayaseelan, A. Dhawan // European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition : book of abstracts. – Budapest, 2009. – P. 8.
518. Sherman D. S. Assessing renal function in cirrhotic patients: problems and pitfalls / D. S. Sherman, D. N. Fish, I. Teitelbaum // Am. J. Kidney Dis. – 2003. – Vol. 41. – P. 269–278.
519. Shi Z. Strain-specific differences in mouse hepatic wound healing are mediated by divergent T helper cytokine responses / Z. Shi, A. E. Wakil, D. S. Rockey // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 10663–10668.
520. Shiraki R. Perinatal transmission of hepatitis B virus and its prevention / R. Shiraki // J. Gastroenterology Hepatology. – 2000. – Vol. 15, Suppl. 1 – P. 11–15.
521. Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons / C. S. Lieber, M A. Leo, Q. Cao [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 37. – P. 336–339.

522. Stein G. A method for investigating hepatocytes polyploidization kinetics during postnatal development in mammals / G. Stein, B. Kudryavtsev // *J. Theor. Biol.* – 1992. – V. 156. – P. 349–363.
523. Strausbaugh L. J. Emerging health care-associated infections in the geriatric population / L. J. Strausbaugh // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001. – Vol. 7, N. 2. – P. 517–529.
524. Sun L. Fook-Chong et al. Liver regeneration after partial hepatectomy is non-uniform : flow cytometric bromodeoxyuridine incorporation and cell cycle studies in a porcine model / L. Sun, P. K. H. Chow, S. M. C. Fook-Chong // *Research in Experimental medicine.* – 1999. – V. 198. – P. 229–236.
525. Swan N. Differential diagnosis in pathology. Liver disorders / N. Swan, M. D. Thung, M. A. Gerber. – N.-Y. Tokyo : Igaku-Shoin, 1995. – 180 p.
526. Tauroursodeoxycholic acid inserts the apical conjugate export pump, Mrp2, into canalicular membranes and stimulates organic anion secretion by protein kinase C-dependent mechanisms in cholestatic rat liver / U. Beuers, M. Bilzer, A. Chittattu [et al.] // *Hepatology.* – 2001. – V. 33. – P. 1206–1216.
527. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on liver fibrosis progression in primary billiary cirrhosis / C. Corpechot, F. Carrat, A. M. Bonnand [et al.] // *Hepatology.* – 2000. – V. 32. – P. 1196–1199.
528. The global burden of hepatitis C working group. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C // *G. Clin Pharmacology.* – 2004. – Vol. 44. – P. 20–29.
529. The role of hepatitis C virus – gtotofic T lymphocytes in chronic hepatitis C / D. R. Nelson, C. G. Marousis, G. L. Davis [et al.] // *J. Immunology.* – 1997. – Vol. 158. – P. 1473–1481.
530. Thyroid hormone regulation of rat hepatocytes proliferation and polyploidization / T. Santiago, B. P. Diaz, J. J. Cabrera [et al.] // *Am. J. Physiology.* – 1999. – V. 276. – P. 155–163.
531. TNF-a inhibits liver collagen-al(I) gene expression through a tissue-specific regulatory region / K. Houglum, M. Buch, D. J. Kim [et al.] // *Am. J. Physiology.* – 1998. – V. 37. – P. 840–847.

532. Toyoda H. Conserved balance of hepatocytes nuclear DNA content in mononuclear and binuclear hepatocyte populations during the course of chronic viral hepatitis / H. Toyoda, T. Kumada, O. Bregerie [et al.] // *World J. Gastroenterology*. – 2006. – V. 12 (28). – P. 4546–4548.
533. Targeting liver myofibroblasts : a novel approach in anti-fibrogenic therapy / A. Douglass, K. Wallace, M. Koruth [et al.] // *Hepatol. Int.* – 2008. – N. 2. – P. 405–415.
534. TGFbeta induces apoptosis and EMT in primary mouse hepatocytes independently of p53, p21 Cip1 or Rb status / S. Sheahan, C. O. Bellamy, S. N. Harland [et al.] // *BMC Cancer*. – 2008. – N. 8. – P. 191.
535. Tumour necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) induces hepatic steatosis in viral hepatitis and after alcohol intake [Электронный ресурс] / B. Mundt, T. Wirth, L. Zender [et al.] // *Gut*. – 2005. – N. 54. – Режим доступа до журн. : <http://www.gutjnl.com>.
536. Tumour necrosis factor  $\alpha$  signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice / K. Tomita, G. Tamiya, S. Ando [et al.] // *Gut*. – 2006. – N. 55. – P. 415–424.
537. Ursodeoxycholate and tauroursodeoxycholate inhibit cholangiocyte growth and secretion of BDL rats through activation of PKC alpha / G. Alpini, L. Baiocchi, S. Glaser, Y. Ueno [et al.] // *Hepatology*. – 2002. – V. 35. – P. 1041–1052.
538. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase / alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease / E. Giannini, D. Risso, F. Botta [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 163. – P. 218–224.
539. Veenman L. The peripheral-type benzodiazepine receptor and the cardiovascular system. Implications for drug development / L. Veenman, M. Gavish // *Pharmacology and Therapeutics*. – 2006. – V. 110, Iss. 3. – P. 503–524.
540. Vertical transmission of hepatitis C virus (HCV) detected by HCV-RNA analysis / T. Kuroki, S. Nishiguchi, K. Fukuda [et al.] // *Gut*. – 1993. – V.34, Suppl. – S. 52-53.



541. Vitale M. Characterization and cell cycle kinetics of hepatocytes during rat liver regeneration : in vivo BrdUrd incorporation analysed by flow cytometry and electron microscopy / M. Vitale, R. Rizolli, G. Mazzotti // *Cell prolifer.* – 1991. – V. 24 (3). – P. 331-338.
542. Wang J. H. Nuclear DNA content of altered hepatic foci in a rat liver carcinogenesis / J. H. Wang, L. I. Hinrichen, C. M. Whitacre // *Cancer research.* – 1990. – V. 50. – P. 7571–7576.
543. Yao G. B. Efficacy and safety of Bicyclol in treatment of 2200 chronic viral hepatitis / G. B. Yao, D. Z. Xu, P. Lan // *Chin. J. New Drug Clin. Rem.* – 2005. – V. 245. – P. 421–425.
544. Yuan A. L. Tumor necrosis factor alpha levels in patients with chronic liver diseases and its relationship to pathogenesis / A. L. Yuan, Y. H. Luo, S. D. Liu // *Chung. Hua. I. Hsueh. Tsa. Chin.* – 1994. – V. 33 (10). – P. 672–674.
545. Zhu H. Interleukin-1 inhibits hepatitis C virus subgenomic RNA replication by activation of extracellular regulated kinase pathway / H. Zhu, C. Liu // *J. Virology.* – 2003. – V. 77, N. 9. – P. 5493–5498.